THÈSES

présentées

à la Faculté des Sciences de l'Université de Rennes

pour obtenir

le titre de Docteur de l'Université de Rennes

par

Marcel SAINCLIVIER

Ingénieur Agricole et Ingénieur des Industries Agricoles

Chef de Travaux à l'Ecole Nationale

d'Agriculture de Rennes

1re Thèse : **Contribution à l'Etude de quelques Aspergilles**

2e Thèse : **Propositions données par la Faculté.**

présentées et soutenues le 23 MARS 1949

devant la commission d'examen :

Président : **M. HAGENE,** Professeur de botanique, Rennes.

Examinateurs : **MM. MOREAU,** Professeur de botanique, Caen.

VENE, Maître de conférences de chimie, Rennes.

TOME I

1949

Autorisation d'imprimer du 28 janvier 1949 - Rennes

A Monsieur HAGENE, Professeur à
la Faculté des Sciences de Rennes

et à Monsieur CALANDRON, Professeur
à l'Ecole Nationale d'Agriculture
de Rennes,

en témoignage de ma profonde gratitude

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

C O N T R I B U T I O N

A

L'ETUDE DE QUELQUES ASPERGILLES

TOME I

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

C O N T R I B U T I O N

A

L'ETUDE DE QUELQUES ASPERGILLES

TOME I

Monsieur HAGENE, Professeur à la Faculté des Sciences de Rennes, a bien voulu accepter de suivre cette étude. Il nous a fait bénéficier de sa documentation personnelle et a aimablement mis son laboratoire à notre disposition Ses conseils nous furent du plus précieux secours. Qu'il trouve ici l'expression de notre très vive reconnaissance.

La partie biochimique du présent travail a été réalisée à l'Ecole Nationale d'Agriculture de Rennes. Monsieur CALANDRON, Professeur dans cet établissement, nous a guidé et conseillé dans nos recherches. Sa longue expérience, dont il nous fit profiter avec une constante bienveillance, nous permit d'éviter bien des écueils. Nous lui adressons le témoignage de notre affectueuse gratitude.

PREMIERE PARTIE

ETUDE MORPHOLOGIQUE DE QUELQUES ASPERGILLUS

I- HISTORIQUE

L'étude morphologique des moisissures, quoiqu'encore bien sommaire, apparaît avec MICHELI en 1729. Il créé le genre Aspergillus pour désigner des moisissures présentant une disposition particulière de leurs spores "reliées entre elles en longs "cordons rectilignes noueux et qui parfois sont emboitées dans "un placenta sphérique ". La racine éthymologique doit être le substatif latin "aspergillum" signifiant aspersoir ou goupillon Cette appellation décrit assez exactement l'appareil conidien. Bien que les données de MICHELI ne soient pas assez précises pour assurer l'autonomie du genre, le texte de son Nova plantarum genera fournit tout de même une base pour la distinction entre les aspergilles actuels et les penicilles. Il compare les aspergilles à tête renflée et à pédicelle distinctement visible, des autres moisissures sans pédicelle. Il distingue même déjà, peut-on croire, une certaine différence entre les groupes puisqu'il signale un Aspergillus capitatus ochroleucus (appartenant vraisemblablement au groupe ochraceus) et un Aspergillus capitulo pulla qui appartient sans doute au groupe Niger. D'autres auteurs d'ailleurs à cette époque utilisent la même terminologie mais sans publier de dessins permettant une identification certaine avec le genre Aspergillus.

Pendant deux siècles, une grande quantité de publications va s'accumuler sur ce sujet. Au début, les auteurs décrivent surtout l'aspect microscopique des espèces nouvelles qu'ils rencontrent. Ce n'est que plus tard avec De BARY qu'un regroupement s'effectuera et que les cultures comparatives prendront leur essor.

THOM (1) divise l'évolution de l'étude des aspergilles en deux époques: la première s'étageant de 1729 à 1891 qu'il appelle période de morphologie physiologique, la deuxième s'écoulant après 1891 qu'il nomme période biochimique. La période morpho-physiologique s'ouvre, de 1729 à 1854, par 71 travaux et publications.

En 1742, HALLER semble confondre un Sporodinia avec l'Aspergillus ramosissimus, de même que PERSOON confond le genre Aspergillus avec des formes très différentes, telles

que Monilia racemosa, BULLIARD avec le Mucor, GMELIN avec Monilia. Puis l'usage du terme Aspergillus devient plus courant (Aspergillus albus, A. purpureus, A. niveus, etc...) et tend à désigner un genre bien déterminé.

WIGGERS en 1780 observe alors la formation des périthèses jaunes. Il les considère comme une moisissure différente de l'Aspergillus sur lequel il les observe et leur donne le nom de Mucor herbariorum. LINK en 1809 examine les têtes vertes de l'Aspergillus glaucus mais donne le nom d'Eurotium herbariorum aux périthèces jaunes.

Il semble que ce soit CORDA en 1828 qui publie les premières études correctes sur la structure des têtes d'aspergillus alors que MONTAGNE en 1850 estime qu'aucune description écrite ne permet encore une identification certaine, tandis que THOM, actuellement trouve que certaines descriptions de MONTAGNE sont elles-mêmes difficiles à interpréter. De toute façon il est indéniable que CORDA en 1840 (7) complète la diagnose du genre en observant les sterigmates et leur rôle dans la formation des spores. Il précise ses observations par des dessins d'une grande netteté. En 1847, SLUYTER signale une maladie provoquée par un Aspergillus. Il est suivi sur ce point par VIRCHOW en 1856, puis ensuite par FRIEDREICH, DURSH, PAGENSTECHER, COHNHEIN et FURBINGER (2).

C'est avec De BARY, vers la même époque en 1850-1854 qu'apparaît le début d'une documentation plus solide. De 1854 à 1872, 73 nouvelles études vont paraître. D'abord De BARY reconnaît et prouve que le mycélium de l'Aspergillus glaucus donne aussi naissance aux périthèces jaunes appelés jusqu'alors Eurotium herbariorum par LINK. Il établit donc ainsi la non dualité de cette espèce et il peut être considéré comme l'inventeur de la forme parfaite ou ascosporée des aspergilles.

CRAMER en 1859 établit le genre Stérigmatocystis pour caractériser les aspergillus à double série de stérigmates (2) .FRESENIUS, WILHEIM et BREFELD en Allemagne, RAULIN et VAN TIEGHEM en France publient d'importants travaux entre 1860 et 1870 notamment sur la fermentation gallique par l'A. niger et l'étude de sa végétation dont il sera reparlé plus loin.

De 1872 à 1891 le nombre des travaux augmente, il en est publié 236 pendant cette période.

En 1880 alors que BAINIER commence à publier quelques études sur différents aspergillus, LOEWENBERG cite de nombreux cas d'otomycosis causés par eux (2), ce qui est d'ailleurs plus ou moins contesté à l'époque par BAINIER. Il faut citer encore en cette fin de siècle GUEGUEN, SARTORY en France et un plus tard BIOURGE en Belgique.

WEHMER en 1891 commence la publication de ses études biochimiques sur l'acide oxalique qui serviront de base à ses monographies de 1901. C'est le début de la période biochimique, pendant laquelle le nombre des travaux va s'accroître de plus en plus. BLOCHWITZ y travaille vers la même époque mais ses travaux ne seront publiés qu'après la guerre en 1929

Au début du XX^{ème} siècle les études monographiques et taxonomiques se multiplient avec la création de noms et de termes nouveaux basés sur des différenciations parfois critiquables. THOM & CHURCH commencent leurs études en 1910 et publient une première monographie en 1926 qui tend à réagir contre pléthore terminologique. A cette époque de très nombreux travauxparaissent dans tous les pays et il serait presque impossible de les nommer tous. A titre indicatif en 1929-1930 TAMIYA & MORITA peuvent citer plus de 2400 publications concernant plus ou moins les aspergillus (3) dont 2000 environ de 1891 à 1928.

D'une façon générale jusqu'à THOM il n'existe aucune uniformitédans la terminologie ni dans la classification des aspergillus. Chaque auteur se servant la plupart du temps des termes qui lui paraissent les plus appropriés.

SACCARDO (4) avait établi un premier catalogue, mais les termes utilisés varient d'une espèce à l'autre. Dans sa monographie de 1926, THOM simplifie beaucoup la classification, et réduit les espèces à un nombre raisonnable en admettant comme synonyme probable toute espèce non nettement différenciée d'une voisine, ou insuffisamment décrite.

La deuxième édition de 1945 apporte en outre de nombreuses améliorations.

NEILL en 1939 réduit encore les espèces reconnues à un nombre plus restreint, mais pour ce faire, il accorde peu de crédit à la forme des têtes fructifères et à la formation des spores. D'autres systèmes avaient été proposés par DODGE en 1935 et George SMITH en 1938 mais actuellement il semble que le travail de THOM fasse autorité en la matière.

II- CARACTERISATION DU GENRE ASPERGILLUS

De nombreux termes ont été utilisés pour désigner ces moisissures et il est nécessaire de les passer en revue avant de caractériser le genre Aspergillus tel qu'il sera admis dans cette étude.

SACCARDO (4) admet trois genres à savoir l'Aspergillus, le Stérigmatocystis et l'Eurotium. MICHELI, lui, ne connaissait que l'Aspergillus. LINK avait introduit en outre l'Eurotium. C'est CRÜBER qui créa le genre Stérigmatocystis. Citons encore le genre Euaspergillus de LUDWIG, l'Aspergillopsis de SPEGAZZINI et le Diplostephanus de LANGERON.

D'autres noms ont été utilisés tels que Alliospora pour une espèce noire, Cladosarum pour un mutant du groupe Niger, Ascophora nigrans pour un A. niger, Dimargaris pour une forme blanche, Inzengaea pour un aspergille du groupe Versicolor, Emericella pour une espèce du même groupe, Sartorya pour une forme ascosporée, semble-t-il, de l'A. fumigatus et Mucor ainsi qu'il a déja été dit pour l'A. herbariorum. La plupart de ces noms n'ont pas prévalu, cependant quelques uns restent d'un usage courant et il est bon d'étudier ce qu'ils désignent tout particulièrement.

ASPERGILLUS.-

En faisant une synthèse des descriptions de MICHELI (5) de LINK (6) de CORDA (7), de WILHELM (8), de SACCARDO (9) et de THOM et CHURCH (10) le genre aspergillus peut se caractériser ainsi :

Le mycélium végétatif est constitué d'hyphes ramifiés cloisonnés, incolores ou de couleur claire, voire même dans certaines espèces devenant lentement brunâtre.

Certains mycélium donnent des sclérotes jaunâtres rougeoyant ou brunâtres. Des hyphes fertiles appelés conidiophores s'élèvent perpendiculairement au grand axe de cellules élargies du mycélium végétatif et à parois épaisses ; THOM les nomme foot-cells, ce qu'une traduction libre permettrait d'appeler cellule de base. Les conidiophores sont habituellement unicellulaires (parfois cloisonnés) et se terminent par une vésicule globuleuse, sphérique, hémisphérique ou elliptique. Celle-ci porte des cellules généralement rayonnantes, en paquets serrés sur tout ou partie de

la vésicule : les stérigmates. Ceux-ci peuvent être en une série seulement ou en porter une deuxième série à leur sommet, ce sont les stérigmates secondaires. Dans ce cas certains auteurs n'admettent plus le nom d'aspergillus mais en font genre à part les Stérigmatocystis. Enfin les stérigmates donnent naissance aux conidies, celles-ci sont de forme taille et couleur extrêmement variables. Elles se séparent du stérigmate par une cloison et leur succession finit par former de longs chapelets non ramifiés rayonnants dans les têtes fructifères sphériques ou juxtaposés parallèlement dans les têtes présentant la forme en colonne.

Certains groupes d'Aspergillus donnent aussi naissance à des périthèces à parois minces et renfermant des asques et ascospores. Certains auteurs créent le genre Eurotium pour les groupes présentant des périthèces.

Les sclérotes existent constamment dans quelques souches, ils apparaissent sporadiquement dans certaines et enfin n'ont jamais été rencontrés dans d'autres. Ils sont généralement globuleux ou subglobuleux et composés de cellules polyhédriques a parois épaisses.

EUROTIUM.-

Initialement WIGGERS en avait fait le Mucor herbariorum (11) que LINK appela Eurotium (12) et que DE BARY (13) identifia définitivement. La forme conidienne est identique à celle précédemment décrite mais parmi le fin réseau d'hyphes les périthèces apparaissent. DE BARY dénomme alors, tous les aspergilles sous le vocable : Eurotium aspergillus que la forme ascosporée soit connue ou non. C'est ainsi par exemple qu'il donne le nom d'Eurotium aspergillus nigrum (19) à l'Aspergillus niger bien que son fruit ascosporé lui soit inconnu.

D'autres auteurs, tels que VAN TIEGHEM par exemple (18) n'utilisent ce terme que pour les souches ayant des périthèces.

Beaucoup d'auteurs ayant prétexté la prédominance numérique des espèces non ascosporées pour ne garder que la seule dénomination aspergillus, le terme Eurotium ne sera pas utilisé ici.

STERIGMATOCYSTIS.-

CRÜER crée ce genre en 1859 (14) pour distinguer les espèces a double série de stérigmates. Cette différentiation a été acceptée par beaucoup d'auteurs parmi lesquels

SACCARDO (15) et VAN TIEGHEM (18) qui remplacent le terme Aspergillus niger par Stérigmatocystis nigra. En outre, dans sa description des fructifications ascosporées du genre Stérigmatocystis VAN TIEGHEM (18) note entre les deux périodes de formation des périthèces (1ère période transitoire : sclérotes ; 2ème période : transformation du sclérote en périthèce) une suspension complète du développement et une mise au repos des tissus ; observation ébauchée déjà par BREFELD (20). C'est pour lui une raison de plus pour séparer les genres aspergillus et stérigmatocystis.

Cette façon de voir est réfutée principalement par WEHMER et THOM.

L'utilisation de ce genre nouveau amènerait une subdivision multipliée dans tous les groupes et compliquerait le problème de leur classification, il ne sera donc pas employé dans cet ouvrage.

ASPERGILLOPSIS.-
SPEGAZZINI en 1911 (17) décrit les aspergilles à spores noires comme une famille des Hyphomycétales : les Dématiacées imprégnées de pigment fuligineux et voudrait en faire un genre a part : les Aspergillopsis. Cette proposition ne semble pas avoir été suivie.

EUASPERGILLUS.-
LUDWIG en 1892 (16) proposait de classer dans ce genre tout aspergille produisant des sclérotes. Pour la même raison que ci-dessus ce genre ne sera pas retenu.

DIPLOSTEPHANUS.-
LANGERON en 1929 (43) proposait de classer dans ce genre les aspergilles ascosporés a double série de stérigmates, soit en quelque sorte les Stérigmatocystis ascosporés. Cette subdivision compliquerait trop la classification et ne semble pas non plus avoir été suivie.

En résumé il ne sera donc employé par la suite que le terme Aspergillus pour désigner le genre tel qu'il a été caractérisé dans la description faite ci-dessus sous ce vocable.

III - TERMINOLOGIE MORPHOLOGIQUE

Afin de pouvoir exprimer clairement les descriptions des souches étudiées, et surtout afin d'éviter toute confusion, le présent chapitre est destiné à préciser le sens donné aux termes employés ultérieurement.

a) La tête conidienne

La tête conidienne est la partie de l'appareil conidien supportée par le conidiophore.

C'est le premier examen à faire dans l'étude morphologique des aspergilles. La couleur, la taille, la forme et la structure générale des têtes sont caractéristiques des groupes

WEHMER en 1901 les avaient déjà classées en deux grands groupes : les Microaspergilles (A. versicolor et A. fumigatus par ex.) et les Macroaspergilles (dans lesquels on trouverait l'A. niger, l'A. ochraceus, l'A. Tamarii etc...). Etant donné le nombre accru d'espèces identifiées il apparait que cette simple distinction devient insuffisante. Il faut indiquer maintenant une série de caractères qui restent plus ou moins fixes dans chaque groupe. Par exemple certaines espèces présentent presque constamment des têtes ayant la forme de colonnes étroites et petites comparativement aux autres espèces (groupe nidulans). D'autres au contraire sont caractéristiquement grandes et globuleuses telles que dans le groupe niger où elles sont noires, et le groupe Wentii où elles sont jaune vert olive à brun foncé. Certaines se fendent très typiquement en deux comme dans l'A. ochraceus. Enfin, d'autres espèces présentent des tailles et des formes variables sur une même colonie. C'est souvent le cas des groupes flavus et candidus.

Il est donc nécessaire de faire un assez grand nombre d'observations afin d'en déduire une moyenne ou une prédominance permettant d'établir une description aussi proche que possible de la réalité.

b) Le conidiophore

Dans le mycélium végétatif, certaines cellules se différencient pour donner naissance au conidiophore. THOM(1) les appelle foot-cells. C'est en quelque sorte la cellule du pied du conidiophore, ou de la base du conidiophore. Pour simplifier nous les appellerons "cellules de base".

Celles-ci, d'abord semblables au reste du mycélium, deviennent plus grandes, elles s'élargissent, leur parois s'épaissit et on distingue la double membrane(Planche IX - fig. 2). Puis apparaissent des bourgeonnements qui vont former une ramification(conidiophore)perpendiculaire au grand axe de la cellule de base. En vieillissant elles deviennent habituellement plutôt tortueuses et nettement différenciées du mycélium végétatif. Elles sont le plus souvent submergées dans le substratum bien que dans nombre de souches, les conidiophores naissent d'hyphes végétatifs aériens. Dans ce cas les cellules de base sont peu ou pas différenciées(Planche XV - fig.5, 8, 12). Certains auteurs se servent de l'observation détaillée de ces cellules, ou voire de leur absence pour la diagnose des espèces. Il ne manque pas d'autres caractères distinctifs permettant de laisser de côté cette discrimination.

Le conidiophore lui-même est très souvent dressé au-dessus de la surface mycélienne. Au sommet, il se dilate plus ou moins pour former la vésicule. Généralement lorsque les auteurs indiquent les dimensions du diamètre du conidiophore, cela s'entend : diamètre mensuré immédiatement au-dessous de la tête conidienne.

Quelques aspergilles présentent des conidiophores cloisonnés, notamment dans le groupe glaucus(Planche XIV - fig. 8 & 9). La plupart des autres ont un conidiophore continu, non cloisonné. Les parois sont le plus souvent très épaisses l'épaississement de la membrane peut être uniforme ou, sinon important à la base, puis allant en s'amincissant jusqu'au sommet.

Une autre caractéristique est à noter : la surface extérieure de la paroi du conidiophore peut être lisse ou rugueuse. Dans certains cas THOM suppose que cette rugosité pourrait être due aux dépots laissés par l'évaporation de nombreuses gouttelettes de liquide très visibles sur les jeunes conidiophores.

Enfin les parois peuvent être colorées entièrement ou partiellement;chez un très grand nombre d'espèces elles sont incolores; à la binoculaire, le conidiophore se présente alors comme un mince fil de verre étiré plus ou moins brillant Dans certains groupes comme le groupe ochraceus la paroi est jaune sur tout ou partie du conidiophore, elle est verte dans d'autres groupes.

c) La vésicule

Cette partie de l'appareil conidien a reçu des noms différents tels que : capitule, tête, renflement terminal,(VAN TIEGHEM(18)), Blase (GERMAN) etc...

Le conidiophore habituellement plus large au sommet qu'à la base se dilate d'une façon plus ou moins progressive pour donner une ampoule qui reçoit le nom de vésicule(THOM(1)). Elle présente des formes variables suivant les groupes ; clavéiforme (gr. clavatus), globuleuse, sphérique, hémisphérique elliptique, etc.... De même, ses dimensions restent à peu près constantes dans une certaine limite chez des espèces voisines formant une série. Il n'existe que très rarement une cloison de séparation entre la vésicule et le conidiophore, un tel fait a cependant été décrit par CORDA chez l'Asp. mucoroïdes.

d) Les stérigmates

La surface fertile de la vésicule supporte des cellules que THOM appelle : stérigmates. Le plus souvent ceux-ci ont leur grand axe perpendiculaire à la surface tangente à la vésicule au point d'insertion. Les stérigmates peuvent être en une seule assise ou série c'est-à-dire qu'ils donneront directement naissance aux conidies(Planche XI fig. 10 - Planche V - fig. 5). Par contre d'autres espèces chaque stérigmate donne naissance à deux ou plusieurs autres cellules formant une couronne verticillée à son sommet, ce sont les stérigmates secondaires ou encore, comme dit THOM, les stérigmates au sens strict du mot, par opposition à ceux insérésdirectement sur la vésicule qui deviennent les stérigmates primaires (PlancheXII fig. 11 - Planche IX fig. 6). Ce sont alors les stérigmates secondaires qui donnent naissance aux conidies.

Dans les espèces à une seule série, la forme et les dimensions des stérigmates sont relativement constantes. Dans celles à deux séries, les stérigmates primaires sont essentiellement variables alors que les secondaires restent plus uniformes.

La terminologie qui vient d'être énoncée est loin d'être acceptée par tous les auteurs. C'est ainsi que les stérigmates primaires ont été souvent appelés basides. SACCARDO(4)emploie les termes : stérigmates, basides, pseudobasides, pour désigner les stérigmates primaires, et stérigmate pseudostérigmate, ramuli, rami pour désigner la série secondaire. VUILLEMIN(21 -22)basant sa classification des FungiImperfecti

sur les conidies vraies et les gradations de l'appareil conidien, écrit plus particulièrement :"Le rameau qui sert" " de support immédiat aux conidies a souvent la forme d'un" "flacon avec ventre et col rappelant une baside monosporée" "et son stérigmate". C'est pourquoi il lui donne le nom de phialide (du grec phiala : flacon, fiole)pour le distinguer du terme baside réservé aux basidiomycètes. Les rameaux qui portent des phialides prennent alors lenom de phialophores.

Ce terme de phialide est encore employé par de nombreux auteurs. Nous emploierons dans cet ouvrage la terminologie de THOM à savoir, stérigmates primaires et secondaires.

c) Les conidies

La conidie est l'organe spécialisé dans la propagation de l'espèce, elle est d'origine asexuée.

La partie terminale du stérigmate s'allonge et se ren-flo pour donner un bourgeonnement qui s'isole bientot par une cloison. Le col du stérigmate continue cette production si bien que les conidies finissent par former des chaînes, longues parfois de plusieurs centaines de spores.

En réalité dès le début il se forme une première paroi Puis la jeune conidie, puisant sa nourriture dans le proto-plasme du stérigmate, s'agrandit pour atteindre sa taille et sa forme normales. La deuxième paroi apparait alors, sé-parant complètement la spore de la cellule mère, permettant ainsipar satexture et sa couleur, de caractériser réellement l'espèce. Cependant bien que ce soit la conidie qui présente la plus grande fixité des caractères dans une espèce donnée, cette uniformité n'est tout de même pas essentiellement im-muable. Quelques différences dans le développement, la tail-le par exemple peuvent se produire. C'est pourquoi, dans une description, un ordre de grandeur, suffisamment restreint toutefois, sera plus intéressant que la dimension exacte d'une seule conidie. La nature des caractères distinctifs, tels que les aspérités, verrues, leur atténuation, voire dis-parition à la germination, sera plus importante à indiquer que leur nombre et leur dimension.

Certains auteurs parlent d'une formation endogène des conidies, ainsi, par exemple BAINIER & SARTORY(23 -24)décri-vent l'A. fumigatoïdes :"La formation des conidies est net-" "-tement endogène, le sommet du stérigmate s'étireen un tube" "qui renferme une série de conidies pourvues d'une membrane " "lisse. Amesure que le diamètre de ces corpusculos augmente,"

"le tube s'étire, s'étrangle de plus en plus entre les coni-"
"-dies successives et semble s'accoler sur celle-ci"

Or, THOM estime qu'une spore n'est endogène que si elle est formée sans paroi primaire préexistante, et sans l'exis-tence d'un organe spécialisé porteur de spores.

Il n'apparait donc pas possible d'admettre comme endo-gène, la formation des conidies d'aspergilles.

f) Pont interconidien

Encore appelé "disjoncteur", il relie les conidies entre elles. Il n'est pas visible dans toutes les espèces, parfois il ne peut être que supposé par le court espace transparent entre deux spores.(Pl. XIV - fig.17 - Pl.V - fig.7 - Pl.IX - fig.1). Ce pont interconidien est très vraisemblablement constitué par les restes de la paroi du tube terminal du sté-rigmate ayant engendré la spore. L'examen critique des ponts interconidiens ne présente pas une très grande valeur.

g) Périthèces

La morphologie générale des périthèces a été décrite et figurée par De BARY, VAN TIEGHEM, EIDAM etc... Ce sont géné-ralement de petites sphères de 90 à 300 microns de diamètre librement dispersées sur le mycélium végétatif, parfois noyé dans un réseau d'hyphes, parfois plutôt en surface. Ils sont souvent abondants à un point tel que la teinte dominante des colonies est celle des périthèces. Ils se forment de préférence dans les milieux riches en hydrates de carbone as-similables.

VAN TIEGHEM(18) a observé la formation des périthèces. Il y aurait un carpogone spiralé terminal produisant des ramifications durant deux périodes séparées par un temps plus ou moins long. Ces ramifications présentent des carac-tères morphologiques et physiologiques différents dans chaque phase. Pendant la première période, les filaments, émis par la partie inférieure(le périascogone), entourent le carpogone de la base vers le sommet tout en se ramifiant tangentiellement d'abord pour former l'assise extérieure, puis radialement vers l'intérieur pour former un tissu de remplis-sage nutritif éphémère. Dans la deuxième phase, la partie supérieure du carpogone (l'ascogone), de beaucoup la plus im-portante, se ramifie à son tour à l'intérieur du tissu de remplissage qui sert de réserve nutritive et se résorbe pour laisser la place aux dernières ramifications.

Celles-ci se renflent et se différencient

en asques contenant des ascospores. VAN TIEGHEM admet qu'à la fin de la première phase, la structure se présente comme un sclérote. Dans le genre Aspergillus le temps d'arrêt serait peu ou pas marqué entre les deux phases, tandis que dans le genre Stérigmatocystis il y aurait arrêt complet et mise en repos des tissus.

DANGEARD a observé le même développement dans l'A. flavus, A. fumigatus, A. herbariorum, A. ochraceus, A. nidulans, ainsi que DALE (1909) dans l'A. repens, et FRASER dans l'A. herbariorum.

Une autre question se pose celle de l'homothallisme ou de l'hétérothallisme des Aspergilles. Dans la phase parfaite de reproduction, on sait en effet que la division des sexes est limitée aux haplontes (noyaux à n chromosomes) (25). La formation de diplontes (noyaux à 2n chromosomes) par fécondation et le retour à l'haplonte par méiose(division réductrice de 2n à n) n'existent pas. La division des sexes étant limitée au thalle il peut y avoir : homothallisme c'est-à-dire que le thalle est hermaphrodite, neutre (±) ou monoïque, autrement dit il comporte les deux sexes où hétérothallisme c'est-à-dire, que le thalle est dioïque ou encore qu'il y a deux thalles unisexués (hétérogames ou isogames) et que la fécondation ne peut avoir lieu que par la rencontre d'un thalle + et d'un thalle - .

KNIEP en 1928 affirme que A. repens est homothallique, SCHWARTZ, la même année confirme cette opinion ainsi que pour l'A. ruber, 14 souches de glaucus et 4 souches de nidulans ; BLOCHWITZ en 1932, GREENE en 1933 pour A. Fischeri, HENNARD en 1934 arrivent à la même conclusion. Ainsi donc pour le moment on peut s'en tenir à l'hypothèse de l'homothallisme.

Les périthèces se rencontrent surtout dans les groupes glaucus, fischeri, et une série du groupe nidulans. DANGEARD aurait observé des ascospores dans l'A. niger mais il ne les a pas décrit. Il est possible cependant que les sclérotes observés dans certaines souches d'A. niger soient l'aboutissement de la première phase de la formation du périthèce et que la deuxième phase ne se développe que très rarement dans des conditions encore inconnues.

h) Asques et ascospores

Les asques, à l'intérieur des périthèces, sont des cellules sphériques de 10 à 30 microns de diamètre et limi-

-tées par une membrane mince se désagrégeant vite après dé-
-hiscence du périthèce, pour mettre en liberté les ascospo-
-res. Les asques sont le plus souvent octosporées.

La forme, la couleur, l'aspect et la taille des asco-
-spores sont les caractères essentiels de détermination des
espèces, dans les groupes d'aspergilles ascosporés. Le plus
souvent elles sont circulaires vues de face et lenticulaires
vues de profil. Leur forme générale peut être représentée
par la figure que donne deux lentilles convexes soudées par
leur bord avec plus ou moins d'ornements, de sillons, de crê-
-tes unies, étoilées ou ondulueuses sur le parcours de cette
soudure.

Ainsi la série repens du groupe glaucus présente des as-
-cospores lisses, sans rides, crêtes, ni sillons le long de
la ligne équatoriale, La série Amstelodami a des ascospores
identiques mais rugueuses au lieu de lisses, l'A. variecolor
présente des ascospores ayant des ornements, disposés sur la
ligne équatoriale d'une façon telle que vues de face, elles
ressemblent à des étoiles etc...

i) "Hülle cells"

THOM appelle ainsi des cellules relativement grandes
(10/15 microns parfois plus) de forme variable, elliptiques
globuleuses ou allongées, mais à parois devenant excessive-
-ment épaisses(4 microns quelquefois plus) laissant très peu
d'espace libre à l'intérieur. Elles peuvent être, interca-
-laires ou terminales sur un filament, ou libres. Elles ont
encore été appelées chlamydospores par DANGEARD, mais jus-
-qu'à présent il n'a jamais été observé de faculté germina-
-tive chez ces cellules. Elles ont été nommées aussi :"Ei-
-damsche Blasen" en souvenir d'EIDAM qui les avait signalées
le premier. Le terme "Hülle cells" vient probablement du
verbe allemand "hüllen": cacher, envelopper. Le terme hülle
se retrouve par exemple pour désigner le péricarpe des noix
en allemand. Une traduction dans l'esprit du mot permettrait
d'appeler les "hülle cells" : cellules à parois épaisses.
Pour éviter toute fausse interprétation nous utiliserons le
terme "Hülle cells" tel que THOM l'emploie.

Elles se rencontrent très fréquemment dans les souches
produisant des périthèces, dans le groupe nidulans par exem-
-ple, mais ce n'est pas une règle, ainsi elles existent dans
le groupe versicolor où les périthèces n'ont pas été obser-
-vés ; dans le groupe glaucus où les périthèces abondent,
les hülle cells sont inexistants. La question de leur origine

est assez douteuse. Il a été observé, dans l'A. flavipes, qu'à la place des têtes de conidiophores avortées, on pou-vait rencontrer ces cellules. Ce fait a été noté en exami-nant notre souche ENAR n° 166 du groupe versicolor (Pl.XIII fig. 5 & 15) et semble confirmer l'hypothèse précitée. Cepen-dant, les études faites sur cette question sont encore trop peu nombreuses pour dégager des faits précis. La présence ou l'absence de ces cellules peut apporter toutefois une aide à la détermination des espèces.

j) Sclérotes

D'assez nombreuses espèces d'aspergilles présentent des formations rappelant macroscopiquement les périthèces quoique généralement plus gros. Ce sont des petites masses dures ca-ractéristiques plus ou moins sphériques colorées différem-ment selon les espèces, et dispersées ou groupées en amas dans le mycélium végétatif. Le développement des sclérotes, n'a pas été encore suffisamment étudié pour en tirer une si-gnification génétique. Dans la souche ENAR n° 190 du groupe ochraceus, nous avons observé, parmi le mycélium végétatif, des filaments qui se gonflent, se cloisonnent, s'enchevêtrent sans ordre apparent (Pl. X fig. 1) pour former ensuite un pseudo-parenchyme (Pl. X fig. 2) constitué par de larges cel-lules à parois épaisses et à protoplasme très granuleux et de filaments en voie de transformation. Finalement le scléro-rote présente une mince zone corticale formée de cellules polyhédriques à parois jaunes relativement peu épaisses (Pl. X fig. 3), et à l'intérieur des cellules plus grandes, de formes plus irrégulières à parois beaucoup plus épaisses et laissant des méats entre elles. GUEGUEN (26) avait décrit des sclérotes entièrement identiques dans le Stérigmatocystis auricoma.

IV - CLASSIFICATION DES ASPERGILLES

Le genre Aspergillus est classé actuellement de deux façons différentes :

soit dans la classe des Ascomycètes en raison des formes ascosporées rencontrées dans certaines espèces, et alors ils prennent place dans l'ordre des Plectascales, famille des As-pergillacées.

soit dans les Fungi imperfecti (Adélomycètes) parmi les Hyphomycètes dans l'ordre des Mucédinées, famille des Asper-gillées, s'il n'est pas tenu compte des formes parfaites.

D'autres propositions ont été faites telles que celle de G.M.MARTIN qui remplacerait les Plectascales par le nom d'Eu-rotiales, Aspergillacées par Eurotiacées et Aspergillus par Eurotium.

Il faut citer aussi VUILLEMIN (21-22) proposant la clas-sification des Fungi imperfecti en Thallosporés, Hémisporés, et Conidiosporés. Parmi les Conidiosporés il proposerait qua-tre ordres : les sporotrichés, les sporophorés, les phiali-dés et les prophialidés. C'est dans l'ordre des phialidés qu'il classerait la famille des Aspergillacées.

La classification des groupes à l'intérieur du genre Aspergillus a donné lieu à de nombreuses propositions décou-lant toutes des théories conçues par les auteurs et exposées partiellement au chapitre II.

Ainsi SACCARDO, dans chacun des trois sous-genres : As-pergillus, Sterigmatocystis, Eurotium, classe les espèces par groupes caractérisés par la couleur des conidies.

WILHELM proposait une classification en deux groupes :
1) Eurotium renfermant les formes à périthèces et divisé en deux sous-groupes à stérigmates simples ou ramifiés
2) Un groupe sans périthèce pouvant comporter des sclérotes et divisé comme dans le premiergroupe.

VAN TIEGHEM (27) critiquant cette classification propo-sait alors en 1877 la solution suivante :

Stérig-	simples	Périthèces continus	tels :A. repens
-mates	(Asper-)	Périthèces discontinus	tels :A. flavus
(Euro-)	(gillus)	Périthèces inconnus	tels :A. clavatus
(-tium)			
	rameux	Pétithèces continus	tels :.....
	Sterigma	Périthèces discontinus	tels :St.nigra
	tocystis	Périthèces inconnus	tels :St.alba

Classification basée sur ses observations signalées aux chap.II et III.

THOM (1) a proposé et utilisé une classification qui est suivie maintenant par de nombreux auteurs. Un seul terme est utilisé : celui d'Aspergillus. Il les a rangés en une série de groupes naturels, divisés eux-mêmes en séries lorsque plusieurs espèces présentent des caractères communs à l'intérieur d'un groupe.

Puisqu'il sera fait usage de cette classification dans le présent travail, la clef des groupes selon THOM est reproduite ci-contre :

Certes, cette clef n'est pas parfaite puisque par exemple, parmi les trois groupes ascosporés il existe des séries anascosporés (groupe glaucus, série restrictus), et que dans la grande subdivision à stérigmates doubles il existe des groupes présentant des séries à stérigmates simples et des séries à stérigmates doubles comme dans le groupe Tamarii.

Cependant chaque groupe correspond à un nombre de caractères nets et bien définis, et il devient relativement facile de classer une souche nouvelle. Par ailleurs, chaque groupe possède sa clef propre, il en sera donné un aperçu au chap. VIII.

Elle permet en outre, au lecteur d'une description basée sur cette classification de se représenter d'une façon satisfaisante la souche que l'auteur a voulu dépeindre.

- CLEF DES GROUPES -

Gr. A.CLAVATUS tête claviforme					Stérig. — simples
Gr. A.GLAUCUS périthèces jaunes					
Gr. A.FUMIGATUS		Ascos porés			
Gr. A.NIDULANS ascospores rouges.	Coni-		sans — sclérotes		
Gr. A. USTUS					
Gr. A. FLAVIPES	dio- à	Hülle cells		Coni- — dioph. lisses	
Gr. A. VERSICOLOR	paroi brunâtre				
Gr. A. TERREUS					
Gr. A. CANDIDUS					Stérig. — doubles
Gr. A. NIGER têtes globuleuses, noir foncé					
Gr. A. WENTII					
Gr. A. TAMARII			présence de sclérotes	Coni - — dioph. rugueux	
Gr. A. FLAVUS - ORYZAE - têtes jaune-vert.					
Gr. A. OCHRACEUS têtes ocre ou jaune.	Conidiophores à parois jaune				

V- ORIGINE ET ISOLEMENT DES SOUCHES FAISANT L'OBJET DE LA PRESENTE THESE

Les moisissures croissent abondamment sur toutes les matières organiques naturelles sucrées. Les aspergillus peuvent s'y rencontrer. Il fallut donc, pour commencer, se procurer des échantillons susceptibles d'être contaminés afin d'en isoler les aspergilles devant servir de matériau de base aux études envisagées. Il a bien été dit et répété que pour obtenir l'Asp. niger par exemple, il suffisait de laisser un peu de pain humide à l'air libre, ou encore une solution de tanin etc...Ces procédés n'ont jamais donné de résultats.

Notre laboratoire reçut d'Indochine, du Cameroun, du Togo et de la Côte d'Ivoire, des échantillons de grains de café vert, du riz non décortiqué, des figues, des dattes et des produits coloniaux divers. De ces échantillons ont été isolés la plupart des souches décrites ci-après. Cependant d'autres espèces proviennent d'un lait de la région, souillé par du fumier.

Lorsqu'après plusieurs repiquages et examens microscopiques, les souches étaient reconnues parfaitement pures, il leur était donné un numéro d'ordre précédé des initiales de l'école ex.: E.N.A.R. N° 190.

Sur une fiche foliotée à ce numéro, les premières indications et l'origine étaient indiquées.

Donc aucune des espèces décrites dans la présente thèse n'est en provenance d'un laboratoire étranger, toutes ont été isolées directement de la nature, par nos soins.

L'entretien est assuré par cultures sur un milieu nutritif spécial (décrit dans le chapitre suivant) à température de la chambre, le repiquage est effectué tous les quinze jours et la pureté des souches contrôlée constamment par les méthodes habituelles de la microbiologie.

VI - CULTURE DES ASPERGILLES

L'étude détaillée d'une souche pure nécessite l'ensemencement des conidies sur des milieux préalablement stérilisés et dont la composition permet le développement optimum de la moisissure. Les milieux doivent donc être adaptés rigoureusement aux besoins alimentaires du champignon. Les méthodes de travail, les récipients utilisés, etc... ont aussi leur importance et peuvent modifier l'aspect des cultures. C'est pourquoi il convient de préciser les conditions dans lesquelles nous avons travaillé.

a) Milieux de culture

Trouver un milieu synthétique de composition déterminée, exige de nombreux travaux et des tâtonnements innombrables, ce fut l'objet des célèbres recherches de RAULIN(28-29) sur l'aspergillus niger et qui l'amenèrent à établir la composition type suivante:

Eau : 1500 cc	carbonate de magnésium 0gr40
saccharose: 70 Gr	sulfate d'ammonium 0gr 25
acide tartrique 4 Gr.	sulfate de zinc 0gr 07
phosphate d'ammonium 0,gr60	sulfate ferreux 0gr07
carbonate de potassium 0gr60	silicate de potassium 0gr07
nitrate d'ammonium 4 gr.	

qui peut s'exprimer encore ainsi:

Eau 1500 cc	SO_4H_2	0gr 25
saccharose 70 gr	SiO_2	0gr 03
acide tartrique 4gr	KOH	0gr 40
ammonium 2gr	MgO	0gr 20
acide phosphori-	ZnO	0gr 04
que 0gr 4		
	FeO	0gr 03

En ce qui concerne l'aliment hydrocarboné, le saccharose est le sucre généralement le plus favorable et dans lequel le glucose est utilisé très vite au début pour la construction des tissus, le lévulose étant consommé pour les dépenses d'entretien (MOLLIARD).

La deuxième partie de la présente thèse, amenant à parler plus en détail de l'aliment hydrocarboné, il n'en sera plus question pour le moment.

Quant à l'aliment minéral, il a été l'objet de nombreux travaux. RAULIN avait en quelque sorte établi une classification de l'importance des aliments minéraux en exprimant leur coefficient d'utilité spécifique, ce qui donnait par ordre d'importance:
Zinc 953 ; Fer 857; Soufre 346; Silicium 320 ; Magnésium 200, etc...; auparavant en 1863 il considérait le manganèse comme un élément très utile et "presque" nécessaire au développement de la moisissure(30). Ce n'est que plus tard pendant les recherches concernant sa thèse qu'il découvre l'importance du fer, et du zinc, alors qu'avec le manganèse il n'obtient plus que des résultats inconstants Il dit notamment " En l'absence de fer, les spores se forment "de plus en plus péniblement à mesure que le liquide d'où "elles naissent a déjà produit un plus grand nombre de récoltes". Il émettait en outre l'hypothèse que cette non sporulation pouvait être provoquée par l'action d'un composé toxique ne pouvant se former qu'en l'absence de sels de fer et que ce composé pourrait être l'acide sulfocyanhydrique. FERNBACH en 1902 a établi de son côté que de petites doses de sulfocyanure d'NH3 entravent la formation des conidies (31) mais SANSON en 1911 démontre que l'asporulation n'est pas attribuable à l'action de la substance prenant naissance en l'absence de fer (32). En 1913 ce même auteur (33) dans de nouvelles recherches établit que le milieu de culture s'épuise en éléments utiles à la sporulation et que le fer, aliment indispensable ne l'est pas à la sporulation. Ses expériences permettent d'établir que : 1) la sporulation est d'autant plus rapide que le milieu contient moins de phosphore.- 2) qu'elle est d'autant plus lente, que le milieu renferme plus de magnésium;" 3) que le manganèse, l'oxygène et tous les éléments du liquide de RAULIN concourent à la formation des spores. (Il en excepte toutefois le zinc dont le rôle lui paraît douteux, alors que JAVILLIER (37) avait démontré l'existence d'une zône optima de concentration de Zn- 4) Le manganèse et le potassium sont les seuls éléments dont la suppression provoque l'absence de sporulation de l'A niger.

En ce qui concerne le potassium MOLLIARD et COUPIN en 1903 (34) avaient déjà constaté des anomalies, dans la morphologie d'A .niger, en l'absence de potassium, telles que mycélium peu épais, teinte cendrée des spores; appareils conidiens clairsemés. En 1924 MOLLIARD reprend cette question (35) et ayant constaté que les cendres de l'A. niger s'appauvrissent en potassium lorsque l'acidité libre augmente, il confirme que c'est bien l'inanition en potassium qui intervient et non l'acidité du milieu. Ceci explique pourquoi

TANRET (42) en 1896 avait constaté un mycélium quasi stérile en triplant la dose de NO3NH4 dans le milieu de RAULIN et noté en même temps l'apparition d(acide nitrique libre dans le milieu.

En 1940 KAUFMANN et ses collaborateurs (36) concluent de leurs expériences que le potassium est un élément utile mais non indispensable. Les spores ensemencées sur milieu de RAULIN sans potassium germent mais avec retard et le début de la croissance est bien ralenti.

En ce qui concerne le Manganèse, BERTRAND G. et JAVILLIER en 1912 (38) montrent qu'il possède réellement une influence favorable sur le développement de l'Asp. niger. Les récoltes augmentent avec la proportion de manganèse, elles ne diminuent qu'en présence de très grandes quantités. Peu après ces mêmes auteurs (39) découvrent que l'on obtient des poids de récolte plus grands encore par l'addition simultanée de Zn et de Mn, que par l'addition d'un seul de ces métaux. Ils établissent ainsi une nouvelle notion : l'action cumulative des éléments catalytiques du milieu nutritif. Cependant G. BERTRAND (40) continue à élucider la question du manganèse et il arrive à la conclusion suivante : une proportion extraordinairement petite de manganèse suffit au développement de l'Asp. niger, quelques centièmes de milligrammes de ce sel peuvent suffire pour apporter, dans un milieu de culture, une dose de manganèse facilement appréciable par l'Asp. niger ; c'est ce qui fait attribuer au sulfate ferreux des effets dus en réalité exclusivement ou tout au moins en grande partie à l'impureté qui l'accompagne. Le sulfate ferreux contient en effet d'après G. BERTRAND de 0,2 à 0,5 milligrammes de manganèse par gramme de sel. Enfin la notion précédemment émise s'affirme quand G. BERTRAND (41) énonce que le fer, le manganèse, le zinc et sans doute tous les éléments nutritifs agissent synergiquement sur la croissance et la fructification de l'A. niger. Si l'un des éléments manque,ou se raréfie, la moisissure se développe à peine. Quelque soit le développement, si la proportion de manganèse assimilée est insuffisante, il n'y a pas sporulation. Cette conclusion se rapproche de celle de KAUFMANN (36) estimant que le Zn, le Fe, le Si, le Cu ne sont pas indispensables pour la germination et le développement de la spore, mais qu'ils sont utiles.

Ce même auteur, en 1940, signale que le magnésium est indispensable pour la germination et le développement des spores mais que son action est conditionnée par sa concentration Des concentrations excédant 250/1000000 exercent une action inhibitrice(ce qui avait déjà été observé par SAUTON,déjà cité)

Milieu de CZAPEK : L'emploi de milieux synthétiques étant nécessaire pour l'étude poursuivie dans la deuxième partie de ce travail, toutes les souches ont été cultivées sur l'un de ces milieux. Les différentes considérations ci-dessus ont amené à employer la formule suivante qui est celle de CZAPEK adaptée par DOX et telle que la rapporte THOM(1-p.32 & 33).

Eau....1000 cc SO4Mg 0gr5 Saccharose 30 gr.
NO3Na.....2 gr KCl...0gr5 Gélose.....15 gr.
PO4HK2....1 gr SO4Fe 0gr010

Cette formule est dénommée ici sous le nom de : milieu de CZAPEK gélosé. Dans le cas d'utilisation du même milieu sans agar agar, il est dénommé : milieu de CZAPEK liquide. Sa réaction proche de la neutralité, permet un développement moyen normal de tous les aspergilles. A chaque préparation le saccharose a été ajouté aseptiquement en solution aqueuse, après stérilisation à 112°C pendant 15 minutes et refroidissement, dans la solution minérale stérilisée à 120°C pendant 15 minutes et refroidie. Ceci afin d'éviter la caramélisation du saccharose et son inversion. Certes le milieu de CZAPEK n'est peut-être pas le milieu parfait, mais sa préparation facile, nettement établie, permet l'étude comparative des résultats obtenus par divers auteurs employant cette formule.

Certaines souches ayant montré une répugnance à se développer sur ce milieu, il a été modifié en conséquence par l'addition par exemple de sulfate d'ammonium, ou de peptone. Dans ce cas la modification est notifiée expressément afin d'éviter toute confusion.

Enfin dans certains cas il a paru nécessaire de comparer l'aspect des souches selon l'aliment hydrocarboné. Pour cela le sucre utilisé a été ajouté au lieu du saccharose et dans la même proportion. C'est ainsi que pour étayer les observations faites en deuxième partie, les souches ont été examinées sur CZAPEK liquide lactosé,(le lactose étant ajouté avec les mêmes précautions que précédemment pour le saccharose), et sur CZAPEK liquide sucré avec du lactose inverti. Dans ce cas la solution de lactose acidulée à l'HCl(d=1,39) était portée au bain marie à 100°C pendant une heure puis neutralisée à chaud, stérilisée à 112°C pendant 15 minutes et ajoutée à froid à la solution minérale comme précédemment.

THOM donne deux formules de milieu de sporulation à base de glucose, de nitrate ou phosphate d'ammonium; phosphate mono ou bi-potassique, sulfate de magnésium, peptone, bière et eau distillée. Ces milieux n'ont pas été utilisés, toutes les souches étudiées sporulent normalement sur les milieux précités.

Milieu nutritif : Cependant d'autres milieux de culture ont été utilisés. Il était nécessaire d'examiner l'aspect des souches sur des milieux à large "indéterminé alimentaire" (matières dites "impuretés" jouant un rôle essentiel dans l'alimentation) et peu riches. En effet, de nombreux mycologues ont déjà reconnu l'utilité des milieux dits pauvres : LANGERON & MILOCHEVITCH (43) y constatent une morphologie très riche et plus complète, A. VELU (44) préconise un bouillon panse-foie, dilué au 1/4 dans de l'eau salée à 10 pour 100, F. MOREAU (45) emploie le milieu d'épreuve de SABOURAUD dilué au dixième, DESCHIENS & LAMY (46) obtiennent un bon rendement avec un bouillon de maïs maltosé, enfin WESTERDIJK & DIDDENS (47) insistent sur la dégénérescence des souches en culture sur milieux trop riches. Outre ces raisons scientifiques il en existe d'autres plus prosaïques telles que le coût des matières premières et la très grande difficulté qu'il y a à se procurer actuellement certains sucres. Il fallait donc trouver un milieu qui remplisse ces conditions et qui permette en outre l'entretien des divers microorganismes composant notre collection (a), sans qu'il soit nécessaire pour cela de fabriquer à chaque repiquage des milieux différents convenant à chaque ordre, ce qui aurait nécessité une main d'oeuvre et un matériel trop onéreux.

Voici les éléments composant ce milieu : d'une part,3gr. de malt sont moulus très fins et mis à macérer dans 200 cc d'eau potable pendant 12 heures à 50°C. La macération est ensuite bouillie 5minutes et filtrée.

D'autre part 5gr. de tourteillons sont bouillis dans 100 cc d'eau potable pendant quelques minutes. La décoction est filtrée.

Enfin 125 cc de haricots blancs secs cuisent pendant une vingtaine de minutes dans 500 cc d'eau potable. L'opération est arrêtée lorsque la peau commence à se détacher. Le filtrat est recueilli.

Les trois liquides ainsi obtenus sont mélangés et constituent le bouillon "A".

Dans un autre récipient, à 200 cc d'eau potable sont ajoutés 5 cc de Viandox(humidité54%;mat.alim.azotées dont 2% extrait viande:21%;mat.alim.non azotées:6%;mat.min. dont 18% de sel:19%), un gramme de lactose, un gramme de saccharose,

(a) - Levures, Schizosaccharomycètes, Torula, Lycodermes, Mucor, Penicillos, Aspergillos, Bactéries et Cocci courants dans les produits agricoles.

un gramme de glucose massé et des traces de sulfate de zinc, de chlorure de potassium, de sulfate d'ammonium et de phosphate d'ammonium. Ce bouillon "B" est chauffé à feu doux pendant 1/4 d'heure, ajouté au bouillon "A" et filtré sur coton. Après neutralisation avec une soude normale de façon à obtenir une très légère teinte rose du papier à la phénolphtaléine, le mélange est ajusté à un litre avec de l'eau potable et additionné de 20 gr. d'agar agar pour les milieux gélosés ou de 150 gr. de gélatine pour les milieux gélatinés.

La stérilisation est effectuée à 115°C pendant 15 minutes. Cette préparation est dénommée ici : bouillon nutritif ou milieu nutritif gélosé ou gélatiné selon les cas.

Pour le milieu gélatiné, la stérilisation s'effectue par tyndallisation.

Milieu nutritif acide : Le même milieu, réparti dans des tubes en contenant 9 cc, peut recevoir après stérilisation et aseptiquement 1 cc d'une solution d'acide tartrique stérile à 4 gr. pour 100 cc. Ceci donne un milieu nutritif acide à 4 gr. d'acide tartrique par litre.

Milieux naturels :

Carotte - La carotte est un des meilleurs milieux de culture utilisés en mycologie. La décoction de carottes est préférable pour la conservation des souches selon LANGIN ; elle peut être solidifiée par addition de 20 gr. de gélose par litre. LANGIN (48-49) tout en reconnaissant la valeur de cet aliment y adjoint de la glycérine et du glucose ce qui donne selon lui un mélange très favorable à la formation des périthèces. Cette dernière formule a été utilisée ici sous le nom de milieu glycériné de LANGIN et élaborée comme suit : 10 gr. de pulpe de carottes sont délayés dans 100 cc d'eau potable. Après une macération d'une heure à 50°C, l'infusion est bouillie pendant cinq minutes. Après filtration sur coton hydrophile, 10 gr. de glycérine et 20 gr. de glucose sont ajoutés. Après dissolution, le liquide est réparti en tubes à culture ou en boîte de Pétri et stérilisé à 115°C pendant 15 minutes.

A propos des milieux à base de carotte, A. & R. SARTORY (50) ont constaté que l'A. fumigatus, irradié et cultivé sur jus de carotte gélatiné (pH 4,7 ; dissocié par NaCl) et seulement sur ce milieu, forme abondamment des périthèces fertiles à asques et ascospores bien déterminés.

Pommes de terre - La pomme de terre est un milieu naturel très fréquemment utilisé. Les caractères des moisissures

y sont fréquemment observés par de nombreux auteurs. Toutes les souches ont donc été cultivées et examinées sur ce milieu préparé de la façon suivante:

La variété utilisée est la Bintje. Après les avoir pelées et lavées à grande eau, elles sont découpées en prismes rectangulaires et introduites dans des tubes à étranglement de Büchner. L'ampoule inférieure est remplie à la moitié de sa capacité par de l'eau stérile. La stérilisation s'effectue à 120° pendant vingt minutes.

Lait écrémé.- Bien que ce milieu soit peu utilisé en mycologie il a été employé ici, surtout pour caractériser l'action des différentes espèces sur la caséine comparativement à leur action sur les milieux gélatinés.

Le lait écrémé est réparti en tubes et stérilisé à 112° pendant 10 minutes ou mieux tyndallisé. Les tubes contiennent 10 cc de lait.

b) Matériel de culture

RAULIN (28-29) insistait sur la forme des vases de culture, et il relatait que le développement était plus rapide dans un vase découvert que dans un récipient couvert, et plus rapide aussi si le liquide nutritif était peu profond.

Il n'est pas question ici évidemment de travailler en vase découvert puisqu'il faut observer absolument la pureté des souches, cependant afin de maintenir une aération suffisante, les tubes à cultures ne sont pas encapuchonnés et sont disposés très inclinés dans des armoires non fermées. Quant aux boites de Pétri, elles sont choisies de 10 cm de diamètre et d'un cent. 1/2 de hauteur. Boites de Pétri et tubes à culture sont les deux récipients couramment utilisés. Les premières servent surtout pour les isolements, les dilutions et l'examen macroscopique des colonies ou pour l'étude sur milieu liquide. Les seconds servent à entretenir les souches vivantes par repiquage tous les quinze jours.

Toute la verrerie sèche et propre est toujours préalablement stérilisée à 165 ° C pendant 1/2 heure au four Pasteur. Les tubes strictement secs sont bouchés au coton cardé non hydrophile. Les bouchons dépassent peu du tube pour éviter de récolter les poussières et ils sont suffisamment serrés pour s'opposer à leur passage.

Les boites de Pétri, vides, propres et sèches sont enveloppées de deux feuilles croisées de papier ordinaire. Ce

papier n'est enlevé après stérilisation qu'au moment de l'emploi. Cette stérilisation préalable détruit les formes sporulées et résistantes des moisissures et des bactéries. Cette façon de procéder donne une sécurité plus grande en évitant une cause d'infection.

c) Température d'entretien des cultures

Les tubes à culture ainsi préparés reçoivent les milieux précédemment décrits et sont stérilisés à l'autoclave aux températures indiquées ci-dessus selon les milieux.

Les milieux stériles, solides ou liquides sont ensemencés à partir des souches pures et avec les précautions habituelles d'asoptie.

Les tubes ensemencés sont gardés ensuite à la température la plus favorable. La grande majorité des aspergilles croissent bien et sporulent abondamment aux températures voisines de 26°C. A température ordinaire, la croissance est légèrement plus lente mais très souvent suffisante. Pour cette raison, beaucoup de cultures sont simplement laissées à la température du laboratoire. Il est bon cependant de préciser que chaque espèce présente un optimum et que celui-ci n'est pas le même pour tous les aspergilles . - C'est ainsi que certaines espèces à grandes spores du groupe glaucus (A. echinulatus) végètent mieux à 20°C qu'à 25°C (THOM et RAPER-1941). L'A.médius de la même série croit plus rapidement à 18°C, alors qu'à 25°C, la croissance et l'évolution fructifèresont restreintes. Par contre, les espèces à petites spores du groupe glaucus(chevalieri) préfèrent les températures avoisinant 30° C RAPER et THOM ont noté sur l'A. janus des têtes conidiennes blanches portées par de longs conidiophores à 18°C et des têtes vert sombre portées par des conidiophores courts à 30°. D'autres différences morphologiques dues à la température ont été observées sur d'autres espèces. LANGIN(48 49) précise que la température modifie la dimension et la forme des conidies suivant une loi assez constante. A l'optimum et dans le milieu le plus favorable les conidies sont presque toutes semblables par leurs dimensions et leurs formes et ces dimensions correspondent au minimum de taille. Lorsque la température s'écarte de l'optimum au delà ou en deçà, la taille des conidies augmente mais en même temps les dimensions varient beaucoup. Cette formation désordonnée s'accentue encore lorsque la température atteint les températures limites de croissance.

D'une façon générale les aspergilles végètent et sporulent normalement à 30°C, c'est pourquoi toutes les souches ont été cultivées à cette température dans une étuve électrique. Sauf contre indication spécifiée, les observations relatées dans cette ouvrage ont été faites à 30°C .

VII - OBSERVATION ET DESCRIPTION DES ASPERGILLES

La description des souches étudiées comporte l'étude détaillée des caractères microscopiques et celle des caractères des colonies.

La morphologie des souches a été observée en prélevant un prélèvement toutes les trois heures de 18 à 60 heures puis toutes les 6 heures jusqu'à 5 jours, toutes les 24 à 48 heures ensuite jusqu'à 14 ou 21 jours. Chaque examen direct a fait l'objet d'un dessin. Le condensé des observations est décrit sous le titre : caractères microscopiques et les dessins les plus typiques d'une souche sont groupés en une planche correspondante. Chacune de ces planches porte une échelle indiquant les dimensions comparatives. Par suite d'une erreur toutes ces échelles portent les chiffres 0,5,10 microns, alors qu'il faut lire 0,6,12 microns. Tous les prélèvements ont été examinés au grossissement 1.000.

Les colonies ont été examinées deux fois par jour au cours de leur croissance sur tous les milieux. Le premier caractère à observer strictement est la couleur, il faut distinguer celle des parties aériennes (hyphes, conidiophores, têtes, conidies) et celle du substratum. Devant l'impossibilité de se procurer le code international des couleurs, nous employons le "Code universel des couleurs" de SEGUY (51). Chaque fois que cela est possible, la description de la couleur est donnée à côté du numéro (exemple : n° 214, ocre jaune légèrement obscur). L'indication de la couleur est très importante car elle est à la base d'une grande partie de la classification. Cependant, il faut non seulement indiquer la teinte générale mais aussi noter ses variations au cours de la croissance et cela dans les différentes parties composant la moisissure (conidie, stérigmate, vésicule, conidiophores etc...). Les couleurs sont donc indiquées à chaque étude du développement et sur chaque milieu.

D'autre part, la production de pigment diffusant dans le milieu est assez fréquente et essentiellement liée à la composition du milieu. La couleur du substratum est donc donnée pour chaque milieu et aux différents âges. Très fréquemment en effet, la teinte peut changer d'intensité au cours du vieillissement. Il peut même y avoir changement de couleur. En général, les teintes données dans ce travail résultent d'une série d'examens indiquant la couleur le plus souvent observée à tel âge sur tel milieu.

Les autres caractères signalés concernent la plus ou moins grande extension des colonies, leur apparence et leur texture (rase, duveteuse, veloutée etc...), la forme de leur bordure (frangée ou non), la zonation, les perles, l'odeur etc...

Toutes les souches ont été classées selon la clef des groupes de THOM (1) ; pour faciliter leur identification, chacune d'entre elles fera l'objet :

1) d'une description selon THOM des caractères généraux du groupe auquel la souche examinée semble appartenir.

2) d'une description de ladite souche d'après nos observations personnelles.

3) d'un tableau comparatif de notre description et de celle d'une espèce connue s'en rapprochant le plus.

4) d'une identification probable résultant des considérations ci-dessus.

VIII - DESCRIPTION DE QUELQUES SOUCHES D'ASPERGILLUS

A - Groupe des Aspergillus glaucus

Ce groupe comprend des espèces présentant généralement une forme ascosporée. Les périthèces sont globuleux ou subglobuleux jaunes à parois minces et noyés dans un réseau d'hyphes jaunes ou rouges. Les asques sont octosporés, les ascospores lenticulaires sont à parois lisses ou rugueusesavec plus ou moins d'ornementation. Il existe des séries sans forme ascosporée : série restrictus. Les têtes conidiennes sont typiquement vert sombre, le plus souvent radiées, quelquefois en colonne. Les conidiophores à parois lisses se terminent par une vésicule semblable à un dôme. Les stérigmates se présentent en une seule série. Les conidies sont uniformément et caractéristiquement rugueuses.

1 - Série repens

Elle est caractérisée par des espèces présentant des ascospores lenticulaires, de dimension voisine de 5 microns dans le grand axe, à faces convexes lisses présentant une ligne équatoriale sans sillon, ni crête. Parfois cependant un léger sillon dentelé est visible.

Souche E.N.S.A. N° 185 (Pl. XIV)

Origine.-Cette espèce a été isolée de graines de riz non décortiqué en provenance d'Indochine.

Caractères microscopiques :

Les conidies, après avoir doublé de volume, germent en donnant un tube germinatif au bout de 36 à 48 heures (fig.1 et 2). Parfois elles en donnent deux ou trois. Les tubes germinatifs se ramifient et se cloisonnent presque immédiatement en donnant des filaments mycéliens de 2 microns à 2 microns,5 de diamètre à parois minces et à protoplasme rapidement très finement granuleux.

Peu après, au troisième jour, les filaments mycéliens sont devenus plus épais de 3 microns,5 de diamètre environ. Les cloisons sont beaucoup plus nettement apparentés et le protoplasme est presque partout grossièrement granuleux (fig.3).

Les conidiophores naissent de ces articles, les cellules de base (foot cells) n'étant pas différenciées. Ils sont généralement courts (1/2mm) et de diamètre variable mais le plus souvent de 6 microns. Quelquefois ils sont très courts (fig.9) ou cloisonnés (fig.8 et 9). Sur deux échantillons de la 8ème génération (4 mois après l'isolement) il a même été observé quelques conidiophores ramifiés. Ce caractère ne s'est pas maintenu. Le plus souvent les conidiophores sont lisses, incolores, leur paroi est épaisse (0 micron,75 à 1 micron), leur protoplasme d'abord granuleux se vacuolise en vieillissant (fig. 7, 8, 10).

Les têtes conidiennes sont très fréquemment en colonne mais de texture peu serrée (150 microns x 50 à 60 microns) mais de nombreuses têtes (diam.=150 microns) sont néanmoins constituées par un rayonnement divergent et lâche de chaînes conidiennes.

La vésicule hémisphérique ou en calotte, offre des dimensions voisines de 15 microns x 20 à 25 microns dans les têtes adultes.

Du 3ème au 5ème jour les têtes conidiennes se développent et atteignent leur forme définitive (fig. de 4 à 11).

Les stérigmates sont en une seule série et prennent à l'âge adulte, la forme ovale, fusiforme où si l'on veut en massues ventrues de 8 à 10 microns sur 3 microns,5 à 4 microns,5.

Les conidies sont normalement sphériques mais les formes ovales, elliptiques et même pyriformes y sont fréquentes (fig. 1, 10, 11 et 17). Le diamètre moyen est 4 microns,5 à 5 microns pour les formes sphériques et 5 microns x 6 microns,5 à 7 microns pour les ovales, et 3 x 5 à 6 microns pour les elliptiques. Cette divergence de formes et de dimensions a rarement été observée sauf par LANGIN (49) qui en donne une explication que nous avons rapportée à la fin du chapitre VI. Il faut cependant n'accepter qu'avec prudence ces observations, il est fort possible en effet que cette souche présente une légère dégénérescence. Certaines conidies présentent un court disjoncteur (fig.17). Enfin, toutes sont échinulées à l'âge adulte. La membrane externe est épaisse, spinulée et fortement colorée en vert.

PLANCHE XIV

Les périthèces (fig. 15) sont assez abondants et se trouvent suspendus dans un réseau peu serré d'hyphes aériens. Ils sont jaune d'or, sensiblement sphériques d'un diamètre de 90 à 100 microns.

Les asques sphériques (fig. 16a, b, c, d) présentent une fine membrane se résorbant très vite dès leur mise en liberté. Leur diamètre moyen est de 10 à 11 microns rarement 11 microns,5 à 12 microns.

Les ascospores (fig. 1 et 16d) sont au nombre de 8 dans les asques. Elles sont lisses et présentent un sillon équatorial à peine visible, parfois inexistant. Vues de face elles sont circulaires et d'un diamètre de 4 à 5 microns, de profil elles sont lenticulaires, un peu aplaties aux extrémités et de 4 à 5 microns x 2 microns,5 à 3 microns.

Des formes comme celles dessinées (fig. 14) ont été fréquemment observées et représentent vraisemblablement le début de la formation d'un périthèce.

En outre, de très nombreuses formes anormales sont observées dès le 3ème jour (fig. 12 et 13). Il sera reparlé de ces anomalies dans un chapitre spécial.

Caractères macroscopiques :

Milieu nutritif gélosé neutre : La culture progresse assez lentement en formant un feutrage peu élevé compact et peu développé. Elle sporule assez rapidement en donnant une teinte vert jaspé n° 403. La culture reste plutôt rase et présente une frange jaune vert n° 263, le centre devenant vert houx n° 301. Au bout de trois semaines, elle devient gris brun n° 703 et en très vieilles cultures terre d'ombre n° 701. Des perles améthystes sont parfois remarquées ainsi que des repousses blanches. Peu ou pas de périthèces sur ce milieu. Cependant actuellement, c'est-à-dire après deux ans de repiquages sur le même milieu, la formation de périthèces semble de plus en plus importante.

Milieu nutritif gélosé acide : Le développement est assez lent et produit d'abord un mycélium blanc parfois assez clairsemé, échevelé aérien au sommet du tube où il y a peu de gélose (et plus d'air) et sur les parois nues du verre. A la sporulation, la culture présente une frange jaune vert n° 263, le centre est finement granuleux vert de Schoele n° 379. Celui-ci devient en-

suite vert houx n° 301 ou vert tremble n° 303 avec une frange jaune vert n° 263 ou vert pyrite n° 262. Cette dernière teinte est provoquée par la prédominance des périthèces sur les formations conidiennes. Ceux-là se formant surtout près des parois de verre du tube. En vieilles cultures, la teinte centrale devient petit à petit terre d'ombre n° 701. Le revers d'abord blanc est passé du jaune vert au gris sombre et très foncé en vieille culture.

Milieu nutritif gélatiné (à 15°C) : La gélatine n'est jamais liquéfiée même après un long séjour (2 à 3 mois). La moisissure végète sur ce milieu où elle forme une petite cupule lisse gris jaune, sporulant très faiblement en donnant une teinte gris sale.

Milieu de CZAPEK gélosé : Comme sur les autres milieux la progression est lente. Une légère sporulation n'apparaît qu'au 3ème jour. Au 5ème jour, la culture reste peu développée bien qu'ayant progressé, l'aspect reste très ras, la largeur de la strie n'excède pas 5mm, la bordure est jaune citron, le centre, étant vert Schecle n° 379 pendant un temps très court (12 à 18 heures) devient vert mousse passé n° 276. Ces teintes se conservent 15 jours à 3 semaines avant de devenir gris brunâtre au centre et jaunâtre sur les bords.

Pomme de terre : Le mycélium blanc, léger, aérien finement duveteux ou cotonneux, haut de 3m environ, sporule sans donner d'aspect granuleux à la culture. La teinte est alors vert jaspe n° 403. Puis la structure devient finement granuleuse épaisse de 3 à 4mm, une teinte vert de gris n° 419 change successivement en vert jaune n° 282, puis vert houx n° 301, gris souris, mastic n° 339 par taches, avec d'autres plus foncées terre d'ombre n° 701, le tout toujours plus ou moins noyé dans le mycélium blanc duveteux. Parfois il y a quelques repousses jaune pâle n° 290.

Bouillon nutritif : Le développement est excessivement faible, il se forme une très petite colonie peu développée sporulant vert de Schecle n° 379.

Milieu de CZAPEK liquide lactosé : Ce n'est que vers le 7ème jour que peut s'observer un développement quelconque, puis assez rapidement, par comparaison, il se forme un voile ténu, continu jaune vert n° 263 se développant peu par la suite.

Milieu de CZAPEK liquide au lactose hydrolysé : Dès le 3ème jour, un voile mince et peu consistant s'est formé, la sporulation lui donne une teinte vert tendre. Dès le 4ème jour, la formation des périthèces donne une teinte jaune et vert intense. Au 7ème jour, le voile est toujours ras très développé, jaune et vert très intense. Au 12ème jour, la teinte est devenue gris vert cendré. Le revers est brun rouge. Un pigment rouge carmin diffuse dans le milieu. En milieu acide, la teinte du milieu vire au jaune d'or. Au début de l'apparition du pigment dans le liquide une légère fluorescence verte a été observée, mais ce caractère est très fugace.

Milieu glycériné de LANGIN : Le développement est assez rapide. Dès le 3ème jour, une sporulation vert de Scheele n° 379 apparaît très clairsemée puis bientôt une très abondante production de périthèces donne une teinte jaune d'or n° 271 dominante et couvrant presque entièrement la couleur des formations conidiennes.

Lait écrémé : Le développement est assez rapide. Il se forme un léger voile devenant vert jaune. Le revers est orange à brun rouge. Il y a de nombreux périthèces. Parfois un léger pigment rose diffuse. Le lait n'est pas modifié au début mais un début de peptonisation est constaté au bout d'un mois.

TABLEAU COMPARATIF : (voir page suivante).

IDENTIFICATION :

La souche E.N.A.R. N° 185 possède donc des caractères appartenant aux trois variétés. Or, THOM (52) signale que dans une même culture où dans des cultures successives on obtient des différences telles, que la même souche peut donner les deux aspects des variétés Scheelei et B Scheelei, c'est ce que nous avons observé aussi comme le prouve l'exposé ci-dessus. D'autre part BIOURGE a décrit un A. Dierckxii semblable aux précédents mais à conidiophores plus courts et à têtes conidiennes en colonnes plutôt qu'en chaînes radiées et présentant rarement un pigment diffusant. Ces caractères ont été observés aussi sur la souche E.N.A.R. N° 185 à laquelle le nom d'Aspergillus repens sera attribué rejoignant ainsi l'hypothèse de THOM qui admet comme synonymes toutes les variétés précitées.

Toutefois LANGIN (49) précise que l'état conidien de Eurotium repens (DE BARY) n'a rien de commun avec celui d'Aspergillus repens (CORDA) mais en comparant notre des-

= TABLEAU COMPARATIF -

A. repens (Corda)- syn.: A. glaucus var. repens (CORDA) (52)	A. SCHEELEI (BAINIER)(53)
CZAPEK : Restreint, ras vert Scheele puis jaune vert, verdâtre gris. Périthèces jaune d'or sur parois du verre. R. vers jaune vert à marron.	Vert, brunissant puis jaune
	BAINIER lactosé : conidies au 8ème jour.
	Lait : Périthèces au 8ème jour, non caillé peptonise pigment.
Conidies :elliptiques, subglobuleuses, spinuleuses 5 - 6,5	sphériques, rarement ovales courts disjonctor 4,2 - 8,4
Stérigmates : une série - 7 - 10 x 3,5 - 4,5	?
Vésicule : hémisphérique 25 x 40	?
Conidiophore : 500 microns, lisse, incolore	?
Ascospores : lenticulaires, lisses, sillon peu visible, 4,8 - 5,6 x 3,8 - 4,4	sillon parfois très visible 5,6 x 4,5
Asques : 10 - 12	11,6
Périthèces : 75 - 100 subsphérique	126

- TABLEAU COMPARATIF -

A. B. Scheelei (BAINIER)(54)	Souche E.N.A.R. N° 185
Longtemps vert devenant brunâtre.	Peu développé, ras vert de Scheele puis vert mousse passé et gris brunâtre.
conidies au 8ème jour.	CZAPEK lactosé : conidies au 9ème jour.
Début digestion au 25ème jour	Nombreux périthèces au 8ème jour. Digestion au bout d'un mois. Légor pigment.
Gélatine : Pas de liquéfaction.	Pas de liquéfaction
Pas de disjonctor, sphériques irrégulières 4 - 6	sphériques, ovales elliptiques disjonctor ou non, 4,5 - 6,5
Stérigmates : 1 - 2 x 4 - 5	8 - 10 x 3,5 - 4,5
28 x 42	hémisphérique 15 x 20 - 25
?	500 x 6 - lisse incolore
sillon peu visible 5 x 4	lenticulaires, lisse, sillon peu visible 4,5 x2,5 -3
membrane mince et fugace -11	membrane tres labile 10-11
jaune d'or sphérique - 98	90 - 100

cription de la souche E.N.A.R. N° 185 avec celle de MANGIN de A. ropens DE BARY et celle de THOM, de A. ropens CORDA, nous ne constatons que peu de différences, malheureusement il ne s'agit là que de comparaisons de textes.

2 - Série restrictus

Cette série comprend des espèces du groupe glaucus ne présentant pas de forme ascosporée. Elle est plus ou moins intermédiaire entre le groupe glaucus et le groupe fumigatus. Leur caractère distinctif est leur faible expansion sur le milieu de CZAPEK gélosé. Les colonies sont d'une teinte vert sombre à brun vert selon les milieux. Les conidiophores sont lisses, minces, élancés, sinueux. Les têtes sont très souvent en colonnes et moins communément radiées, sphériques ou hémisphériques. Il n'y a qu'une série de stérigmates.

Souche E.N.A.R N° 180 (Pl.XI)

Origine : Cette espèce a été isolée de graines de riz en provenance d'Indochine.

Caractères microscopiques :

Dès 18 heures après l'ensemencement, la germination commence. Les conidies triplent ou parfois quadruplent leur volume (fig.1) pour donner naissance le plus souvent à deux tubes germinatifs, rarement trois (fig.2). Les filaments mycéliens, d'un diamètre de 1 micron,5 à 2 microns pendant les trente premières heures, sont très contournés, sinueux, il sont peu ramifiés et peu cloisonnés. Le protoplasme est très homogène non granuleux. Peu à peu cependant quelques rares cloisons apparaissent en même temps que le protoplasme devient légèrement granuleux.

Les conidiophores naissent comme une simple ramification du mycélium végétatif et sont peu différenciés au départ (fig. 3, 4 et 5). Ils partent souvent d'hyphes aériens, et sont généralement lisses, incolores, et continus, cependant quelques uns sont cloisonnés (fig. 4 et 5) Le plus souvent très sinueux (fig.6) quelques uns sont cependant courts et droits (fig. 14) et d'un diamètre moyen de 4 microns. Très rarement les cellules de base ont été remarquées (fig.14). Elles ont surtout été constatées sur appareils conidiens très courts et issus d'hyphes mycéliens rampants.

PLANCHE XI

Les têtes conidiennes sont typiquement subglobuleuses, serrées, compactes, petites de 30 à 40 microns sur 50 à 60 microns.

La vésicule se présente comme une dilatation assez prononcée du sommet du conidiophore, elle est globuleuse et fertile sur les 3/4 de la surface supérieure. Son diamètre moyen est de 10 à 12 microns (fig. 8 - 10).

L'apparition des stérigates et leur développement se poursuit de 36 heures à 65 heures (fig. 3 à 12). Ceux-ci sont en une seule série. Les premiers apparaissent au sommet de la vésicule puis successivement sur presque toute la surface vésiculaire. Ils ont la forme de petites bouteilles. Leur taille est relativement réduite : 6 à 8 microns x 2 microns,5 maximum.

Les conidies sont typiquement sphériques, lisses dans leur jeune âge, à parois épaisses et très finement échinulées plus tard. Leur diamètre n'excède jamais 2 microns,5 avant germination, mais elles peuvent quadrupler de volume à ce moment.

Il n'a pas été observé de périthèces.

Des formes anormales ont été observées dès le 3ème jour (fig. 15, 16, 17) sur Czapek liquide (voir chapitre IX - c).

Caractères macroscopiques :

Milieu nutritif gélosé neutre : Au début de son isolement, cette souche germait très lentement, le mycélium s'étalait peu, une sporulation intense donnait un aspect velouté à la strie qui restait peu développée et de teinte vert n° 402 ou vert jaspé n° 403. Vers le 5ème ou 6ème jour, il y avait de nombreuses perles incolores disparaissant par la suite. Le revers était blanc crême. Plus tard la teinte devenait d'un beau gris avec parfois des reflets lilas. Actuellement après deux ans d'accoutumance sur ce milieu, la germination est plus rapide, l'expansion un peu plus forte, la teinte vert jaspé du début devient vert if n° 306 en vieilles cultures. Il est très rarement observé maintenant de teinte grise en vieilles cultures.

Milieu nutritif gélosé acide : Aucun développement n'a été constaté à plusieurs reprises.

Milieu nutritif gélatiné (à 15°C) : La gélatine n'est

- TABLEAU COMPARATIF -

A. restrictus (G. SMITH)(55)	A. gracilis (BAINIER)(56)
CZAPEK : Croissance restreinte, vert très sombre devenant gris ou gris brunâtre. Revers incolore, surface veloutée devenant plissée.	Masses hémisphériques bleu vert puis vert noir.
Têtes : colonnes longues compactes 350 x 20 - 30	Colonnes
Conidiophores : parfois 1 ou 2 cloisons lisses, sinueux incolores - 3 microns.	lisses, ramifiés 2 microns8
Vésicule : 7,5 à 14 microns	20 - 25 microns
Stérigmates : 1 série 6 - 9 microns x 2,5 - 3	1 série 5 à 6 microns x ?
Conidies : rugueuses elliptiques, 4,microns 5 - 6 x 3 microns,5.	ovales puis sphériques, 3 microns

- TABLEAU COMPARATIF -

A. gracilis var. exiguus (BAINIER) (57)	Souche E.N.A.R. N° 180
Masses hémisphériques bleu vert puis cendré.	Croissance restreinte à l'origine ; vert devenant gris à l'origine. Revers incolore surface veloutée très rafement plissée.
Gélatine : liquéfiant	non liquéfiant.
Lait : peptonise légèrement.	peptonise lentement.
?	Subglobuleuses 30 - 40 x 50 - 60.
courts, lisses, 3 microns.	Longs, sinueux, lisses ou courts, droits, 4 microns parfois cloisonnés.
24 microns dans la grande largeur.	10 - 12 microns
1 série 3 à 6 microns x ?	1 série 6 - 8 microns x 2,5
elliptiques 3 microns.	sphériques 2 microns,5

jamais liquéfiée. La culture se présente sous forme d'une petite cupule à plis radiaires formée par un mycélium blanc donnant une sporulation très clairsemée vert n° 402

Milieu de CZAPEK gélosé : En 48 heures il se forme une strie large de 2mm seulement rase blanc crayeux. La sporulation dès le 3ème jour forme un tapis de teinte vert n° 404 ou mieux vert de Prusse n° 425. La culture reste très rase. Vers le 5ème ou 6ème jour, cette souche s'étale maintenant plus facilement alors que dans les premiers temps elle restait très limitée. Elle prend alors une teinte vert jaspé foncé n° 401 puis vert de gris très foncé n° 416. Enfin au 8ème ou 9ème jour la couleur se stabilise le plus souvent au vert anglais foncé n° 431 - 432.

Pomme de terre : Le mycélium reste ras ou très légèrement duveteux, blanc. Une sporulation intense donne une teinte vert n° 402 à la culture.

Bouillon nutritif : Il se forme une petite colonie flottante restant très faiblement développée et adoptant une teinte vert n° 402 à la sporulation.

Milieu de Czapek liquide : Jusqu'au 2ème jour, le développement est lent puis le 3ème jour, bien qu'il ne se soit formé qu'un voile restreint, la sporulation s'effectue rapidement en donnant une teinte vert de Prusse n° 425. Le voile reste ténu et fragile.

Milieu glycériné de LANGIN : Même aspect que sur Czapek liquide. Pas de périthèces.

Lait écrémé : Une légère peptonisation est constatée entre le 10 ème et 13 ème jour, puis elle s'accentue pour être complète au bout de cinq semaines. Le sérum est trouble, incolore. La colonie en surface présente le même aspect que sur bouillon nutritif.

TABLEAU COMPARATIF : (voir p. 46 et 47)

IDENTIFICATION :

Il ressort de l'examen de ce tableau comparatif qu'un grand nombre de caractères de la souche E.N.A.R. N° 180 se retrouvent dans l'A. restrictus de SMITH. Il faut cependant retenir que deux de ces caractères tendent à disparaître : croissance restreinte et teinte grise en vieilles cultures et que la forme des têtes est différente. Par contre la var. exiguus diffère déjà plus et l'A. gracilis encore plus.

En conséquence, la souche E.N.A.R. N° 180 sera apparentée au type Aspergillus restrictus (G. SMITH) malgré une nette différence en ce qui concerne les têtes conidiennes, et les conidies plus petites.

B - Groupe des Aspergillus nidulans

L'Aspergillus nidulans a été décrit par EIDAM en 1883. Depuis cette époque le type général des aspergilles appartenant à ce groupe a été bien étudié et les caractères marquants bien établis.

Les têtes conidiennes sont en courtes colonnes, généralement vert sombre, les conidiophores lisses plus ou moins colorés, les stérigmates en deux séries. Un grand nombre d'espèces présentent une forme ascosporée. Il existe cependant une série anascosporée à laquelle doit appartenir la souche qui va être décrite.

Souche E.N.A.R. N° 182 (Pl.XV)

Origine : Cette espèce a été isolée de grains de café en provenance de Brazzaville (Afrique équatoriale française).

Caractères microscopiques :

Les conidies germent en donnant deux ou plusieurs tubes germinatifs d'un micron,5 de diamètre (fig.1). Ils se ramifient intensément, s'enchevêtrent et s'entremêlent abondamment (fig.2), si bien que le thalle est constitué de filaments mycéliens grêles (2microns maximum) très ramifiés et peu cloisonnés. Le protoplasme ne devient granuleux que dans les parties qui donneront naissance aux conidiophores. Ceux-ci sont extrêmement courts et ne dépassent guère 45 à 50 microns sur 3 à 4 microns de diamètre. Ils sont lisses à parois minces et naissent des hyphes du mycélium végétatif sans différenciation, il n'y a pas de cellules de base les filaments étant peu cloisonnés. Les conidiophores sont brunâtres. Assez souvent les conidiophores sont très courts (fig. 6 et 12) surtout lorsqu'ils prennent naissance vers l'extrémité d'un filament mycélien.

Les têtes conidiennes sont généralement en courtes colonnes 80 microns x 40 microns mais les têtes sphériques ou subglobuleuses ne sont pas rares.

La vésicule est demi sphérique et consiste en une

sorte de calotte souvent à peine dilatée du conidiophore. Le diamètre courant des vésicules est de 6 à 8 microns.

Les stérigmates sont en deux séries (fig. 4 à 8 et 11). Les stérigmates primaires ne naissent très fréquemment que sur la moitié supérieure ou le 1/3 supérieur de la vésicule. Ils sont généralement rectangulaires 5 microns x 2 microns,5. Les stérigmates secondaires, en forme de bouteilles (fig. 8, 11 et 12) ont 5 à 6 microns de long sur 2 à 2 microns,5 de large. Ils sont groupés généralement par trois, quelquefois plus, sur les stérigmates primaires.

Les conidies (fig.1, 8 et 11) naissent et restent sphériques. Lorsqu'elles sont jeunes, de très courts disjoncteur se distinguent entre elles. Plus âgées, d'un diamètre moyen de 3 microns, leurs parois assez fortement rugueuses s'épaississent.

Cette espèce se distingue par de nombreuses anomalies dès le 3ème jour, (fig.3). Sur le filament mycélien des formes de fructification apparaissent allant d'un simple stérigmate, issu du filament lui-même, et portant une ou deux conidies à une forme simplifiée de la forme normale, avec tous les intermédiaires possibles.

Caractères macroscopiques :

Milieu nutritif gélosé neutre: La germination ne commence qu'à 36 ou 48 heures, en donnant un mycélium blanc ras ; celui-ci s'étend lentement, vers le 4ème jour la sporulation donne une teinte loutre n° 234, le revers est alors pourpre carmin n° 47. Peu à peu un pigment pourpre n° 46 diffuse dans le milieu. En vieilles cultures, la teinte devient verdâtre n° 233 et assez souvent il y a des repousses blanc rose.

Milieu nutritif gélosé acide : La culture ne s'étend pas, au 5ème jour elle est encore globuleuse, restreinte de coloration vert jaune. Beaucoup plus tard, elle devient sublaineuse vert n° 235 à revers brun rouge.

Milieu nutritif gélatiné (à 15°C) : La culture présente les mêmes caractères que sur milieu nutritif gélosé neutre mais avec une texture sublaineuse. La sporulation donne un aspect très finement granuleux plutôt velouté vert jaune très légèrement ocre. Le revers est extrêmement plissé à gros mamelons pourpre carmin n° 47.

PLANCHE XV

Un pigment de même teinte diffuse dans le milieu. Parfois en vieilles cultures il existe des repousses blanches. La gélatine est partiellement liquéfiée, la liquéfaction commençant vers le 15 ou 17 ème jour.

Milieu de Czapek gélosé : Après une germination très claire à 24 heures, cette espèce donne à 48 heures une mince strie blanc crayeux avec de petits filaments dressés de 1mm de haut. Au 3ème jour, la strie est large de 3mm, le centre est sporulé à peine vert, la bordure est blanche. Au 5ème jour, la largeur atteinte est de 8mm en moyenne. La colonie est rase, une bordure blanche de 2mm entoure le centre vert buis n° 372 - 373 Elle progresse peu ensuite et devient vert jaspé foncé n° 401 à partir du 7ème jour, pour prendre vers le 20ème jour une teinte brun grisaille.

Pomme de terre : La culture se présente au 3ème jour sous forme d'un très petit coussinet blanc sale. Au 5ème jour, ce coussinet devient vert jaune non duveteux avec une petite bordure blanche, crayeuse, et une auréole orangée sur la pomme de terre. Au 15ème jour la colonie est globuleuse vert jaune et présente des perles brun foncé ou améthyste, sépia.

Bouillon nutritif : Il se forme vers le 5ème jour un léger anneau mucilagineux. La sporulation, vers le 12ème jour lui donne l'aspect d'un anneau gris vert sale foncé n° 233. Le revers est pourpre carmin n° 47 et au 19ème jour un pigment pourpre carmin n° 46 diffuse lentement.

Milieu de Czapek liquide lactosé : Les 2ème et 3ème jour de petits ilôts gris finissent par se rejoindre en formant un voile très ténu. Au 4ème jour, il y a une très légère sporulation s'intensifiant un peu jusqu'au 7ème jour. Le voile mycélien formé reste très ténu et grisâtre.

Milieu de Czapek liquide au lactose hydrolysé : Dès le 3ème jour il se forme un voile mycélien, épais, blanc, très plissé, très mamelonné, et dont la consistance rappelle celle du papier mâché. Ce voile au 4ème jour devient de plus en plus plissé et mamelonné, et présente une sporulation marginale seulement (en boîte de Pétri), de couleur vert buis n° 372. Au 5ème jour, la sporulation est très fournie sur toute la surface et au 7ème jour le voile de texture toujours très tourmentée prend une teinte vert gris jaune. Au 12ème jour, la teinte est cendrée.

Milieu glycériné de LANGIN : Sur ce milieu il se forme un duvet blanc abondant haut laineux. Noyé dans ce mycélium il y a des taches vertes nombreuses vert de vessie N° 356. Correspondant à ces plaques sporulées il existe au revers des taches pourpre carmin n° 47. Il n'y a pas de périthèces

Lait écrémé : Vers le 5ème jour, il y a des petites colonies flottantes à peine visibles verdâtres puis vert sombre à larges auréoles rouge orange. Le lait ne caille pas mais est peptonisé lentement à partir du 30 ou 35ème jour. Peu à peu un pigment pourpre très foncé diffuse très lentement. Parfois quelques repousses blanches se font jour vers le 20ème jour.

TABLEAU COMPARATIF : (Voir p. 55)

IDENTIFICATION :

La plupart des caractères concordent, cependant il n'est pas signalé de pigment dans A. unguis. Il est vrai que celui observé dans la souche E.N.A.R. N° 182 ne se présente qu'à certains moments et les conditions dans lesquelles il apparaît n'ont pas été recherchées. La souche E.N.A.R. N° 182 est donc apparentée pour le moment à A. unguis (Emile-Weil-Gaudin) d'après la description de THOM.

C - Groupe des Aspergillus versicolor

Les espèces de ce groupe sont caractérisés par des têtes conidiennes hémisphériques ou presque globuleuses de teinte différentes et variables mais présentant souvent à un stade quelconque une nuance verte ou bleu-vert. Les conidiophores sont lisses, incolores, plus ou moins sinueux les vésicules fertiles seulement sur la moitié ou les trois quarts de la surface supérieure. Les conidies globuleuses ou subglobuleuses, échinulées sont supportées par des stérigmates en deux séries.

Ce groupe se divise en deux séries, la série Sydowi dont nous n'avons pas de représentant et la série versicolor.

- Série versicolor -

Dans cette série la teinte est verte sans mélange de bleu, Certaines espèces présentent en outre des nuances chamois, à jaune orange ou occasionnellement couleur

- TABLEAU COMPARATIF -

A. unguis (d'après THOM)(58) syn. St. unguis - Asp. Loaki-ashanonsis.	Souche E.N.A.R. N° 182
CZAPEK : Croissance restreinte, rase irrégulièrement lobé vert jaune verdâtre, vert à vert foncé brunissant en vieillissant sans périthèce ni hülle-cells.	Croissance restreinte, rase,(très plissé sur lactose hydrolysé) vert buis, vert jaspe foncé, gris brun Sans périthèce ni hülle-cells. Pigment carmin sur certains milieux.
Têtes conidiennes : 75 à 150 microns x 40 à 50 microns en colonne.	Courtes colonnes 80 x 40 microns subglobuleuses ou sphériques.
Conidiophores : lisses, bruns 45/65 x 3 à 5 microns.	lisses bruns, 45 - 50 microns x 3 - 4 microns.
Vésicule : 1/2 sphérique 9 à 12 microns.	1/2 sphérique 6 - 8 microns
St. primaires : 5 - 6 microns x 2,5 - 3 microns.	5 - 6 microns x 2,5
St. secondaires : 5 - 6 microns x 2 - 2 microns,5	par 3 parfois plus ; 5 - 6 microns x 2 à 2 microns,5
Conidies : globuleuses, ruguoses vert sombre, 2 microns,5 à 3 microns,5.	3 microns ; sphériques rugueuses. Vert jaspe foncé.

chair. Le revers des colonies est habituellement rose, jaune rouge ou pourpre rouge foncé, rarement incolore. En outre elles diffusent fréquemment un pigment de même teinte dans le milieu.

Souche E.N.A.R. N° 166 (Pl.XIII)

Origine : Cette espèce a été isolée de grains de café en provenance de la région de Brazzaville (A.E.F.).

Caractères microscopiques :

Les conidies gonflent en triplant de volume et donnent deux ou plusieurs tubes germinatifs très fins de 1 micron à 1 micron,5 d'épaisseur (Pl.XIII fig.1). Ils croissent rapidement et dès 20 à 24 heures ils amorcent de très nombreuses ramifications ce qui donne aux filaments des formes irrégulières, sinueuses, noueuses, noduleuses très caractéristiques (fig. 2 et 3). Il n'y a que peu ou pas de cloisons, le protoplasme n'est pas granuleux. Le mycélium ainsi formé gardera presque toujours cet aspect, en effet la plupart des filaments mycéliens adultes sont noueux et d'un diamètre moyen de 2 microns. Rarement le protoplasme devient granuleux (fig.5).

Vers 40 à 42 heures, les cellules de base se distinguent nettement (fig.4) mais elles peuvent être absentes sur les hyphes aériennes (fig.4). Les conidiophores apparaissent et dès leur formation ils atteignent 3 microns à 3 microns,5 de diamètre, épaisseur qui atteindra au maximum 5 microns chez le conidiophore adulte. Leur double paroi se distingue très nettement, et le protoplasme est très finement granuleux; Leur longueur atteint 4 à 500 microns, ils sont lisses et incolores.

Les jeunes têtes conidiennes sont souvent sphériques, quelquefois mais rarement en colonnes très courtes. A maturité elles sont généralement subglobuleuses, radiées de texture peu compacte d'un diamètre moyen de 100 - 110 microns et laissent voir la vésicule incolore par les interstices laissés entre les chaînes conidiennes rayonnantes peu serrées.

La vésicule terminant le conidiophore n'est généralement qu'un renflement terminal demi sphérique de celui-ci (fig. 6 à 10). Il n'a jamais été observé de diamètre supérieur à 8 microns.

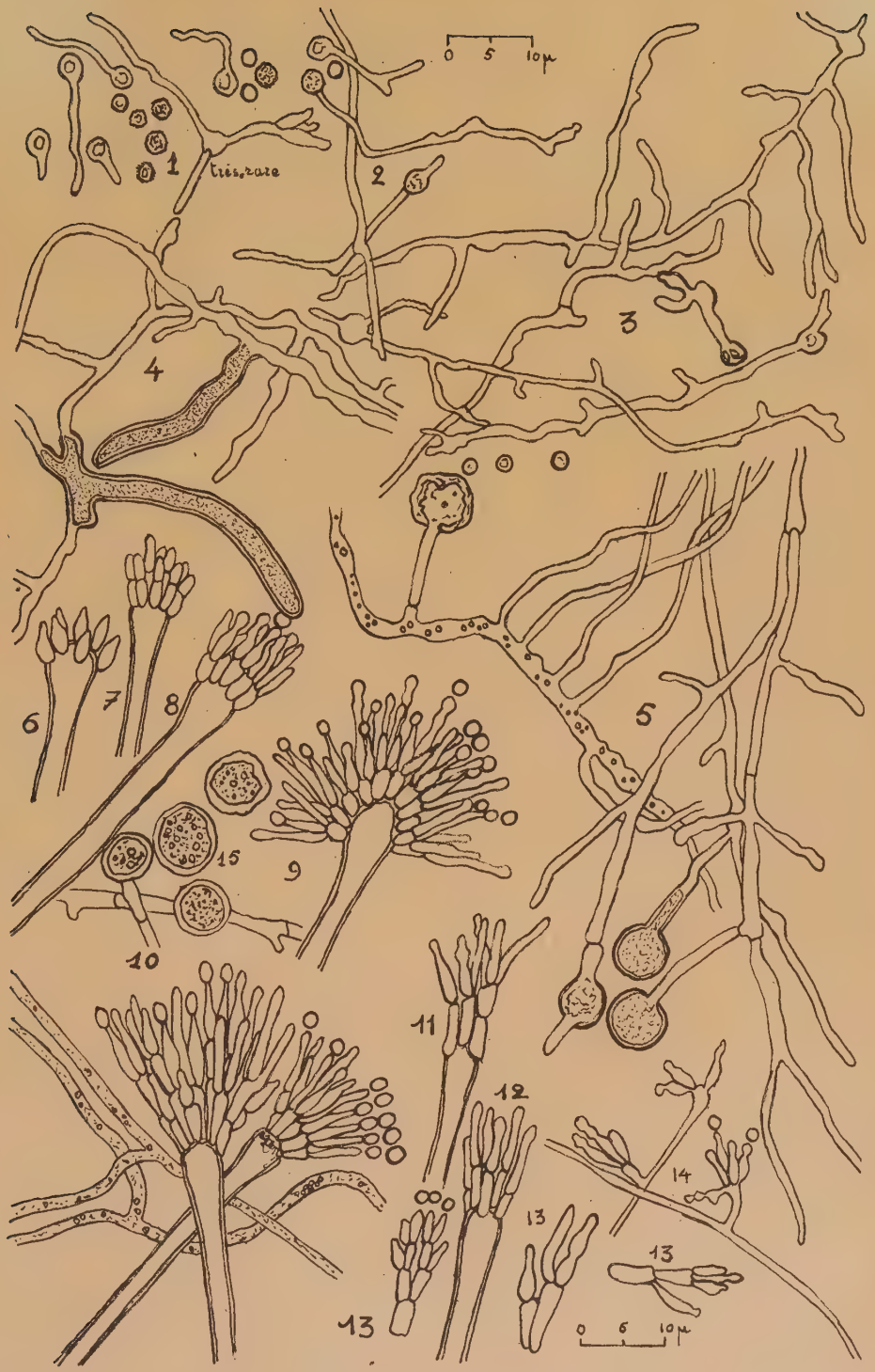

PLANCHE XIII

Vers 60 heures, les stérigmates apparaissent (fig.6 à 10). Ils naissent habituellement sur la moitié supérieure seulement de la vésicule et sont en deux séries. Les stérigmates primaires sont plus ou moins trapézoïdaux ou ovoïdes, la petite base s'insérant sur la vésicule. Ils ont de 4 à 8 microns de long sur 2 microns à 2 microns,5 de large dans leur plus grande largeur. Ils sont très serrés les uns contre les autres. Les stérigmates secondaires, groupés par deux ou par 3 (rarement plus), ont la forme de massues étroites et allongées longues de 6 microns sur 2 microns de large. Ils peuvent atteindre 9 et 10 microns sur certaines têtes (fig.10).Assez fréquemment il existe 3 étages de ramifications au lieu de 2 (fig.10 et 13), le fait est presque courant sur milieu acide (fig. 11) où cette souche végète lentement.

Les conidies naissent généralement ovales et leur seconde membrane ne se forme pas immédiatement (fig.9). A ce moment elles mesurent 2 microns x 1 micron,5 en moyenne et elles sont lisses. Plus tard leur taille s'accroît elles deviennent sphériques, et leur membrane externe est finement échinulée. Elles font en moyenne 2 microns,5 à 3 microns de diamètre.

Il faut noter dès 60 heures la formation de très nombreuses cellules globuleuses à parois très épaisses et protoplasme granuleux de 8 à 10 microns de diamètre en moyenne. Ces cellules peuvent être libres, ou intercalaires ou terminales sur un filament mycélien -(fig.5 et 15). Ce sont vraisemblablement les " h"ulle cells" signalés par THOM.

Enfin des formes anormales se rencontrent quelquefois dès le 6ème jour. L'anomalie la plus fréquente consiste en la réduction à l'extrême du conidiophore qui naît d'un filament et ne dépasse guère 8 à 10 microns. La tête conidienne est constituée par des stérigmates simples très peu nombreux s'insérant directement sur la vésicule qui est à peine différenciée du conidiophore (fig.14).

Caractères macroscopiques :

Milieu nutritif gélosé neutre : Une germination assez rapide forme d'abord un coussinet blanc serré qui devient poussiéreux à la sporulation. Il reste ras et prend la teinte vert n° 374. Plus tard enfin il devient vert mousse n° 276. Quelquefois en vieille culture la surface très poudreuse est d'un vert foncé n° 427. Assez souvent des perles incolores ou légèrement teintées de jaune parsèment la

culture. Le revers est légèrement orangé et un pigment rose très pâle diffuse dans le milieu gélosé.

Après plusieurs générations les spores apparaissent tout de suite d'un vert jaunâtre puis foncent ensuite pour devenir vert mousse n° 276. Les perles incolores ou à reflets jaunes sont toujours fréquentes.

Milieu nutritif gélosé acide : Le développement est beaucoup plus lent et les cultures obtenues sont de teintes généralement beaucoup plus claires. Des perles nombreuses, très brillantes jaunes parsèment la surface. Le revers est jaune et il n'est pas noté de pigment diffusant.

En réalité le pigment rouge, virant au jaune en milieu acide, n'est pas discernable, le milieu de culture étant naturellement jaune.

Milieu nutritif gélatiné (à 15°C) : Sur ce milieu encore le développement semble gêné, il reste blanc très longtemps et enfin donne une faible sporulation grise. Le revers est blanc et forme de gros vallonnements. Il provoque une liquéfaction assez énergique dès le 7ème jour.

Pomme de terre : Ce milieu convient bien et il se recouvre assez rapidement d'une fine poussière vert foncé n° 371 sur toute la surface de la pomme de terre. Sur de vieilles cultures de deux mois il semble qu'assez fréquemment cette teinte se complique de reflets bleu (couleur sulfate de Cu) très nets.

Milieu de Czapek gélosé : La germination semble assez peu fournie en 24 heures. Le deuxième jour apparaît une mince strie blanche légèrement duveteuse. Le 3ème jour le mycélium prend une teinte crême, les bords de la culture sont excessivement nets et abrupts sur la gélose, la strie étant large de 3mm. Au 5ème jour, celle-ci s'est accrue et est devenue d'une teinte rouille n° 248 à la base du tube puis au sommet d'une teinte rappelant le pigment diffusant avec une large bordure blanche. Cette teinte est rapidement recouverte par celle des spores si bien que la strie est vert tremble n° 303 et la bordure vert neutre n° 305.

Le pigment diffusant, d'abord rose lilas n° 2 devient rouge corinthien n° 31.

Parfois les cultures présentent une strie centrale vert tremble n° 303, puis une bordure de part et d'autre

couleur rouille n° 248, puis de chaque côté, après cette bordure rouille, une frange vert neutre n° 305, elle-même bordée d'une frange blanche vers l'extérieur.

Au 7ème jour enfin, dans le cas le plus courant alors que la culture au connet du tube présente les teintes vertes précitées, elle est à la base du tube rouille n° 248 ou parfois rose lilas. De toute façon peu à peu toute la culture finira par devenir vert tremble n° 304 et le pigment colore intensément le milieu en rouge corinthien n° 31. Revers n° 31.

Milieu de Czapek liquide : Le mycélium apparaît blanc pour devenir couleur rouille puis toute la surface devient poudreuse verte (même teinte que ci-dessus). Le pigment rose très pâle se distingue dès le 3ème jour puis fonce de plus en plus et constamment au fur et à mesure du vieillissement des cultures.

Milieu de Czapek (saccharose remplacé par du lactose préalablement hydrolysé en glucose et galactose). : Le mycélium se développe pour former à 2 jours 1/2 un voile assez épais, blanc absolu, duveteux, plissé, mamelonné et cotonneux. Les plis sont de plus en plus marqués et la texture devient presque laineuse. Vers 3 jours 1/2 une légère sporulation verte apparaît noyée dans les filaments blancs du mycélium. La sporulation s'intensifie de plus en plus, en même temps qu'apparaît une teinte rouge dans le milieu.

Milieu de Czapek (saccharose remplacé par du lactose pur) Avec ce milieu l'aspect est encore différent, à peine un fin réseau mycélien se développe-t-il qu'une fine sporulation vert tremble n° 304 recouvre très rapidement la surface. Il n'a jamais été observé de pigment diffusant sur ce milieu.

Milieu glycériné de Langin : Le développement est très faible. Aucune forme ascosporée, n'a été observée mais par contre quantité de formes conidiennes anormales ont été constatées à l'examen microscopique.

Bouillon nutritif : Il se forme un voile épais présentant le même aspect que la culture sur le même milieu gélosé.

Lait écrémé : Le mycélium forme un voile très mamelonné, craquelé. La sporulation est grisâtre et peu abondante. Le lait n'est pas caillé mais une peptonisation assez active commence vers le 8ème ou 9ème jour, pour de-

venir totale au bout d'un mois. Le sérum est coloré en rose carmin très vif.

NOTA.- Le pigment diffusant est rouge corinthien en milieu alcalin, et vire au jaune d'or en milieu acide. Le virage a lieu entre pH 6, 9 et 7,1. Le virage retour du milieu acide vers le milieu neutre est beaucoup moins net et de toute façon on n'obtient plus la teinte rouge corinthien mais un rose pâle.

En outre, ce pigment est insoluble dans le toluène et l'éther mais soluble dans l'eau, l'alcool et l'acétone.

TABLEAU COMPARATIF ET IDENTIFICATION :

(voir après la description de la souche E.N.A.R.N°165

Souche E.N. A. R. N° 165 (Pl.X)

Origine : Cette espèce a été isolée de grains de café en provenance de la région de Brazzaville. (A.E.F.)

Caractères microscopiques :

Les conidies germent en triplant de volume et émettent généralement deux tubes germinatifs rarement plus (fig. 1 et 2). Ils croissent en donnant un thalle formé de filaments mycéliens ramifiés peu cloisonnés d'abord et d'un diamètre de 1 micron,5. Plus tard vers 40 heures (fig.4) le protoplasme devient légèrement granuleux avec quelques grosses granulations réfringentes. Les cloisons transversales sont alors très visibles et plus nombreuses ; le diamètre des filaments atteint 2 microns,5. Vers 52 - 56 heures certains filaments présentent des aspérités nombreuses. Ce sont généralement ceux qui donneront naissance aux conidiophores (fig.3). Ceux-ci sont lisses, incolores, à parois épaisses,souvent sinueux, longs de 600 à 1000 microns et d'un diamètre de 5 microns au maximum. Leur protoplasme est très finement granuleux.

Les têtes conidiennes jeunes sont nettement hémisphériques, puis à maturité elles deviennent plus ou moins sphériques, composées de chaînes conidiennes rayonnantes très peu serrées. Il a été observé des têtes en forme de colonnes dans certains cas, parfois sur la même culture et sans qu'il y ait infection, ainsi que l'a prouvé un isolement subséquent. Le plus souvent cependant les têtes conidiennes sont sphériques et mesurent 110 à 130 microns de dia-

PLANCHE X

mètre.

La vésicule terminant le conidiophore, s'annonce d'une façon encore plus progressive que dans la souche E.N.A.R. N° 166. Elle passe presque imperceptiblement au conidiophore (fig.5 à 10). Elle n'excède pas 8 microns dans sa plus grande largeur.

Les stérigmates apparaissent vers le début du 3ème jour et ne couvrent guère que le 1/3 supérieur de la vésicule. Leur apparition est très nettement successive, ceux du sommet de la vésicule se formant les premiers (fig.5, 6, 7). Les stérigmates primaires sont rectangulaires ou trapézoïdaux (fig.11), ceux de la périphérie présentent une forme en "S" (fig.9). Leur dimension courante est de 5 à 7 microns x 2 à 3 microns. Les stérigmates secondaires sont en forme de quilles de 5 à 9 microns x 2 à 2 microns,5 à col parfois étroit, allongé, voire sinueux. Ils sont fréquemment par 4 sur chaque stérigmate primaire.

Les conidies d'abord ovales, lisses deviennent sphériques et très légèrement échinulées, leur taille dépasse très rarement 2 microns,5 de diamètre avant germination.

Il n'a jamais été observé de cellules du type "Hülle cells" sur cette souche.

Par contre les formes anormales citées pour la souche E.N.A.R. N° 166 se retrouvent ici très fréquemment (fig. 12, 13) dès le 4ème jour.

Caractères macroscopiques :

Milieu nutritif gélosé neutre : Un mycélium blanc absolu apparaît en 2 ou 3 jours. Il forme bientôt un coussinet duveteux de 2 à 3mm de haut. Au bout d'une semaine le centre se colore en rose n° 175. Puis, il devient chamois clair n° 250 au début de la sporulation. Vers le 10ème jour le coussinet est coloré successivement du centre vers la périphérie en chamois clair n° 250 très net, rose n° 175 blanc absolu. Les teintes passent de l'une à l'autre par des dégradés très fondus. Fréquemment alors on constate des perles rose carmin. Le revers est rouge carmin n° 36. Vers le 20ème jour, les spores prennent une teinte vert glauque n° 405 qui finit parfois par recouvrir toute la surface et devient vert houx n° 301. La texture reste haute laineuse. En vieilles cultures (1 mois - 1 mois 1/2) le plus souvent le mycélium blanchâtre parsemé de rose et d'ocre est tacheté de vert, et à l'emplacement de ces taches il se ...

- TABLEAU COMPARATIF -

A. Versicolor (d'après THOM)		
A; versicolor (VUILLEMIN) Tirage NRRL N°239 (60)	NRRL N°227 (61)	St. versicolor (d'après LIRSKY) (59)
CZAPEK : croissance lente, veloutoux, blanc puis jaune orange tan, vert pois, vert sauge, vert abondant, exsudat rouge foncé revers orangé à pourpre rouge.	croissance lente laineux couleur verte presque manquante! Couleur chair fréquente. Revers orangé à pourpre rouge	Touffes blanches puis se recouvre de vert ; taches brunes en vieilles cultures. Pigment rouge diffusant, aspect atypique rose pâle d'où classification en variété rose et variété verte mais considérées comme une même espèce.
Têtes conidiennes : hémisphériques, radiées, rarement en colonne 100 à 125 microns.		Balai 165 x 127 microns.
Conidiophores incolores lisses 500 - 700 x 5 microns.		350 microns x 3,5 à 4,35.
Vésicule fertile 1/2 supérieure 12 à 20 microns.		hémisphérique, fertile 1/2 supérieure 10 - 12 microns.
St. primaire : 8 - 10 microns x 3 microns.		3 à 4 microns, éventuellement 9 microns sur 2,5 - 3 microns.
St. secondaire : 5 - 10 microns x 2 - 2 microns,5		quilles 5 microns x 1,75
Conidies : globuleuses-échinulées 2,5 à 3 microns.		ovales puis sphériques verruqueuses 3 - 3 microns,5
Hülle cells occasionnellement présents Ni sclérotes, ni périthèces.		Ni sclérotes ni périthèces.

TABLEAU COLLECTIF

Souche E.N.A.R. N° 166	Souche E.N.A.R. N° 165
Croissance lente velouteux, blanc rouille, vert tremble, vert abondant, pigment rouge corinthion, revers rouge corinthien.	Croissance encore plus lente. Laineux blanc, rose, ocre, légèrement vert, revers rose carmin.
radiées, 100 - 110 microns.	radiées 110 - 130 microns quelquefois en colonnes, 160 x 100 microns.
lisses, incolores, 500 x 5 microns.	lisses, parfois sinueux, incolores, 600 - 1000 x 5
fertile 1/2 supérieure 8 microns	fertile 12/ supérieure 8 microns
4 à 8 microns x 2 à 2 microns, 5	5 - 7 microns x 2 - 3 microns.
6 microns x 2 microns.	5 - 9 microns x 2 - 2,5
ovales puis sphériques échinulées, 2,5 - 3 microns.	ovales puis sphériques finement échinulées, 2 microns,5.
Nb"hülle cells"? Ni sclérotes ni périthèces	Ni périthèces, ni sclérotes ni "hülle cells".

forme des boursouflures brun noir portant de nombreuses perles de couleur vive carmin rosé.

A vrai dire depuis 3 ou 4 mois ces derniers caractères tendent à disparaître, actuellement les vieilles cultures sont très fréquemment d'une seule teinte vert houx n° 101

Milieu nutritif gélosé acide.- La souche n° 165 s'accomode très difficilement des milieux acides. Au bout d'un mois la culture est toujours rose n° 175. Très rarement la teinte verte a été observée. Microscopiquement de nombreuses formes anormales sont observées.

Milieu nutritif gélatiné (à 15°C).- L'évolution est la même que sur gélose. La gélatine est liquéfiée à partir du 17ème jour. Un pigment rose très clair diffuse dans la partie liquéfiée lorsque le mycélium est de teinte ocre. Les perles carmin sont très nombreuses.

Milieu de Czapek gélosé.- La germination n'a lieu que vers le 3ème ou 4ème jour. Au 5ème jour il se forme une strie blanche large de 2mm rase. Dès le 6ème jour, une légère sporulation verte est constatée. La progression se poursuit ensuite lentement, la strie atteint 1cm de large vers le 10ème jour. Le centre vert paon n° 282- 283 est entouré d'une large bordure chamois n° 250. Le revers est carmin.

Pomme de terre.- Il se forme un coussinet blanc assez épais devenant tardivement chamois n° 250 et gardant cette teinte plus d'un mois avant de devenir mauve lilas.

En très vieilles cultures: la pomme de terre entièrement recouverte présente une mosaïque de taches blanches, chair, ocre, fauve teintées en outre très irrégulièrement de points verts. Il y a de très nombreuses perles carmin foncé.

Bouillon nutritif.- Colonie flottante présentant les mêmes caractères que sur gélose neutre.

Milieu de Czapek liquide.- La culture forme un voile dont l'aspect est le même que sur Czapek gélosé. Vers le 10° jour un pigment rose diffuse dans le milieu de culture.

Milieu de Czapek liquide au lactose préalablement hydrolysé.- Contrairement à ce qu'on aurait pu penser, le développement sur ce milieu est lent au début. Il se forme un voile assez peu épais blanc devenant chamois puis vert très parsemé.

Milieu de Czapek liquide lactosé.- Au 3ème jour il se forme de petites colonies blanches duveteuses, épaisses à la surface et d'un diamètre de 3à 4 mm. L'évolution est très lente, peu à peu les colonies se rejoignent et forment un voile mycélien touffu blanchâtre. Ce n'est qu'au 11ème jour qu'une teinte verdâtre apparaît noyé dans le duvet du mycélium.

Milieu glycériné de Langin.- Il se développe à peine sur ce milieu ou une sporulation verte très clairsemée est constatée. Pas de périthèces.

Lait écrémé.- Le lait commence à être peptonisé dès le 10ème jour, il l'est complétement en un mois. Le sérum est trouble légèrement violacé.

Un mycélium immergé abondant est observé. Il est très manelonné et présente des teintes hétérogènes par taches violettes, blanches, jaune citron rarement vertes. La partie supérieure du mycélium collée sur le verre présente une face verte et un revers carmin vif.

TABLEAU COMPARATIF.- (voir page 66 & 67)

IDENTIFICATION.-

D'après le tableau ci-contre, les deux variétés méritent le nom d'A. versicolor. Cependant deux sous variétés ont été reconnues; l'une:
- la souche NRRL n° 239 de THOM, qui est l'A. versicolor (VUILLEMIN) Tiraboschi, et qui correspond vraisemblablement à la variété verte de MIRSKY(59) quoique celle-ci affirme que variété rose et variété verte sont une seule et même espèce et qu'elle a pu passer de l'une à l'autre (ce que nous n'avons jamais pu réaliser).
- l'autre, la souche NRRL n° 227 correspondant à la variété rose de MIRSKY, et sans doute aussi au St.bicolor de J. RAY (63)

Les observations concernant les pigments diffusants concordent avec celles de COURIN et FRIEDEL (62).

En conséquence, les deux souches E.N.A.R. n° I66 & I65 porteront le nom d'Aspergillus versicolor

E.N.A.R. n° I66 étant apparentée à la souche NRRL n° 239 de THOM.
E.N.A.R. n° 165 étant apparentée à la souche NRRL n° 227 de THOM.

D- Groupe des Aspergillus candidus

Initialement il existait une section d'aspergillus à spores blanches (par ex. les albicantes de SACCARDO) Or, il existe un grand nombre de mutants ou variants d'autres groupes qui prennent la couleur blanche ou se décolorent. Dans sa dernière édition THOM n'inclut dans ce groupe que des formes strictement et clairement décrites. Le groupe se trouve ainsi pratiquement limité à une seule série contenant une seule espèce bien définie l'Aspergillus candidus. Des divers isolements qu'il a effectués, il a obtenu des souches d'apparence générale variable, et de structure microscopique légèrement différente Néanmoins, il n'en fait qu'une seule espèce, tous possédant une tête typiquement globuleuse (rarement en colonne) blanc persistant ou chamois très clair ou gris clair, un conidiophore lisse, incolore, des stérigmates en deux séries, des conidies petites globuleuses ou subglobuleuses, lisses, incolores (ou blanches). Certaines souches présentent des sclérotes de couleur sombre ou noire.

A côté de cette série unique THOM désigne comme variétés blanches des mutants du groupe terreus (A. niveus) du groupe flavipes, du groupe versicolor (A. janus) du groupe fumigatus , du groupe nidulans et du groupe glaucus

- Souche E.N.A.R. N° 169-(Pl. VII et VIII)

Origine.- Cette espèce régionale a été isolée de lait vraisemblablement souillé par du fumier.

Caractères microscopiques :

Sur milieu nutritif gélosé.- Les têtes conidiennes sont blanches, globuleuses, radiées, de diamètre très variable de 150 à 300 microns. Il a même été observé quelques têtes en forme de colonnes mais elles sont rares.

Le conidiophore, long de 3 à 400 microns, est toujours lisse et incolore et d'un diamètre allant de 5 à 7 microns, avec des parois relativement épaisses. Le plus souvent il est continu, mais il a été observé des conidiophores cloisonnés irrégulièrement (Pl. VIII fig.8) notamment sur vieilles cultures ainsi que sur carottes. Dans ce cas les cloisons, très visibles, sont planes et perpendiculaires à l'axe du conidiophore. La vésicule est très nettement sphérique

PLANCHE VIII

d'un diamètre moyen de 15 microns. Elle est fertile sur toute la surface.

Les stérigmates primaires jeunes sont relativement grands. D'abord ovoïdes ou rectangulaires de 15 microns sur 8 à 10 microns (Pl. VIII-fig.7), ils deviennent trapézoïdaux (Pl. VIII-fig.8) ou rectangulaires (Pl. VIII fig.9) et présentent souvent une mince cloison transversale en leur milieu. Certains peuvent alors mesurer jusqu'à 25 microns de long. De toute façon leurs dimensions sont très variables même sur une seule tête conidienne. Leur paroi est épaisse et le protoplasme devient très granuleux avec l'âge.

Les stérigmates secondaires couronnent les stérigmates primaires, par groupe de 4 à 5 et quelquefois jusqu'à 9. Jeunes ils sont ovoïdes ou en massues (Pl. VIII- fig.7) de 8 à 10 microns x 2 à 3 microns. Plus tard, ils deviennent presque rectangulaires (Pl. VIII - fig. 8 et 9) et si leur largeur est presque toujours de 2 microns,5 environ leur longueur est assez variable de 5 à 10 microns le plus souvent de 8 à 9 microns.

Les conidies sont blanches, sphériques, lisses de 2 microns,5 à 3 microns de diamètre très rarement à 4 microns. Il est à remarquer que leur membrane externe se forme très tardivement (Pl. VIII - fig.7).

Sur milieu nutritif gélosé acide (Pl. VIII-fig.10)

Sur ce milieu où le développement est très lent, de très nombreuses formes aberrantes sont observées. Le conidiophore est identique aux filaments mycéliens dont il ne se différencie pas. Il est même parfois très court ou inexistant. L'extrémité libre est à peine élargie en tronc de cône renversé et porte deux ou trois stérigmates primaires élargis difformes supportant des stérigmates secondaires semblables à ceux précédemment décrits ; les conidies sont identiques elles aussi. Il existe aussi des fructifications à 3 étages. L'ensemble se rapproche beaucoup de la forme pénicille et n'a plus rien de commun avec la forme type décrite ci-dessus. Ces formes pénicilles sont aussi très nombreuses sur milieu glycériné de LANGIN.

Sur milieu de Czapek liquide (Pl. VII) : Cette souche présente ici encore un tout autre aspect. A la germination assez lente (en 24 à 48 heures), les conidies donnent naissance à des tubes germinatifs très peu cloisonnés de 1 micron,5 de diamètre et qui se ramifient très tôt (Pl.VII - fig.2). Il se forme un enchevêtrement très ramifié de fila-

ments mycéliens de 1 micron à 4 microns,5 d'épaisseur. Ce mycélium d'ailleurs peut devenir très irrégulier vers le 5ème jour. Il se cloisonne plus ou moins (Pl. VII-fig.6) le protoplasme devient granuleux et très vacuolisé. Les filaments prennent un contour irrégulier ils sont noueux et présentent des cellules plus larges intercalaires ou terminales et à parois épaisses.

Dès le 3ème jour les fructifications apparaissent. Celles-ci sont de formes variées.

La cellule de base peut être inexistante et le conidiophore, non différencié, naître directement de filaments mycéliens comme une simple ramification (Pl. VII - fig.3) ou la cellule de base peut exister, être bien visible et engendrer un conidiophore dont la base sera beaucoup plus étroite que le sommet (Pl. VII - fig.5). Dans le premier cas le conidiophore dépassera rarement 40 microns x 2 à 3 microns, dans le deuxième cas il peut atteindre 150 microns et 5 microns à sa plus grande largeur.

La vésicule est à peine plus large que l'extrémité du conidiophore parfois pratiquement inexistante dans les formes plus ou moins pénicilloïdes .

Les stérigmates primaires (Pl. VII - fig.3) peuvent être absolument difformes ou se rapprocher de petits trapèzes ou triangles de 3 à 4 microns. Généralement ils ne sont insérés que sur la moitié supérieure de la vésicule.

Les stérigmates secondaires en massues sont groupés par 4 ou 5 sur chaque stérigmate primaire et ne dépassent que rarement 5 microns.

Enfin les conidies rondes ou subovales, lisses n'excèdent jamais 2 microns. La formation de la membrane externe est très tardive, vers le 10 ème jour seulement parfois.

Sur ce milieu donc d'une part les appareils fructifères et leurs parties composantes sont plus petites, et d'autre part toutes les formes intermédiaires sont observées depuis la plus simplifiée (Pl. VII - fig.4) jusqu'à celle se rapprochant beaucoup de la forme typique (Pl.VII-fig. 5 et 8). Ces dernières ne s'observant que vers le 6ème ou 8ème jour.

Sur milieu de Czapek gélosé : nous retrouvons les formes normales décrites sur milieu nutritif gélosé, mais beaucoup plus irrégulières (Pl. VIII - fig. 1, 2, 3).

PLANCHE VII

Milieu de Czapek peptonisé (additionné de 2 pour 1000 de peptone).

On retrouve ici les formes typiques (Pl. VIII - fig. 4, 5, et 6) mais un peu plus petites. Le milieu contient beaucoup de très gros cristaux d'oxalate de calcium. Le mycélium de 4 ou 5 jours présente des filaments très épais (parfois 8 à 10 microns de large) et très cloisonnés.

Caractères macroscopiques :

Milieu gélosé neutre : Vers le 2ème jour apparaît un feutrage ras, blanc absolu qui s'étale très peu. La sporulation donne ensuite à la culture un aspect surélevé très granuleux blanc absolu. Il apparaît parfois quelques perles fines très brillantes, incolores.

Milieu nutritif gélosé acide : Le développement est très lent et le poids du mycélium formé reste très faible. L'aspect est filamenteux, ras, blanc absolu.

Milieu nutritif gélatiné (15°C) : Il y a une énergique liquéfaction qui commence dès le 4ème jour. Celle-ci est produite par une colonie dont le développement reste assez faible (diamètre maximum observé 8mm). Le revers est plissé irrégulièrement, la moisissure restant toujours d'un blanc absolu.

Pomme de terre : Même aspect que sur milieu gélosé neutre mais avec un développement beaucoup plus intense. La pomme de terre finit par être entièrement recouverte d'un duvet blanc court devenant granuleux boursouflé d'un blanc absolu.

Milieu de Czapek gélosé : La progression est très lente, la culture reste presque toujours rase. De toute façon elle garde toujours sa teinte blanc absolu avec parfois très rarement au centre une teinte légèrement crême. La largeur de la strie ne dépasse jamais 8mm et n'est atteinte qu'au bout de 7 à 8 jours.

Sur ce même milieu, mais liquide, le développement reste incomplet.

Sur Czapek liquide lactosé le développement est très faible aussi.

Par contre si dans le milieu de Czapek liquide il n'est ajouté que 5 gr. pour 1000 au lieu de 30 gr. de saccharose, le développement observé est légèrement supérieur.

- TABLEAU COMPARATIF -

A. candidus (Link) (64) par THOM	St. alba (Van Tieghem) par BAINIER (65)	St. alba Van Tieghem par SACCARDO
CZAPEK : blanc persistant , parfois même souvent mycélium mince.	taches blanches	taches blanches
?	?	?
?	?	?
Têtes conidiennes blanches, radiées, formes variables 100 à 300 microns.	?	?
Conidiophores : lisses, parois épaisses incolores, dimensions très variables moins de 500 microns à 1000 x 5 à 10	? x 8 microns,4	84 microns x ?
Vésicules : typiquement globuleuses jusqu'à 40 microns parfois plus petites et même pénicilloïdes.	35 microns,7 à 46 microns.	35 à 45 microns
St. primaire : forme et dimensions très variables occasionnellement sur même tête 5 à 30 microns souvent cloisonnés.	16 microns,8	16 à 17 microns
St. secondaire : 5 - 8 x 2,5 - 3	12 microns,6	12 - 13 microns
Conidies:2,5 à 3,5 -4; incol. globul.-lisses.	3 microns,2	sphériques blanches 3, 2

- TABLEAU COMPARATIF -

St. alba (Van Tieghem) par J. RAY(66)	St. candida par BAINIER (65)	Souche E.N.S.A.I. nº 169
Feutrage blanc	blanc	ras blanc très rarement crème
Pomme de terre: abondant blanc	?	duvet très abondant blanc
Gélatine : croûte mince blanche, gélatine liquéfiée.	?	développement faible, liquéfaction énergique
?	?	blanches radiées 150 à 300 microns
233 à 1250 microns x 6 à 12,5 parfois cloisonnés	? x 6 microns,3	lisses, incolores parfois très court parfois cloisonnés, normalement 3 à 400 microns X 5 - 7 microns.
9 à 36 microns parfois pénicilloïde	16 microns,8	sphérique, en moyenne 15 microns parfois pénicilloïde.
12 à 37 microns,5 parfois cloisonnés	42 microns	formes variables 10 à 25 microns x 8 microns souvent cloisonnés
6 -12 microns,5 x 2 à 5 microns	10 microns,5	par 4 ou 5 ; 5 à 10 microns x 2,5
3 microns,1	blanches lisses, rondes 3 microns,1	blanches, sphériques, lisses, 2,5 à 3 rarement 4 parfois 2 microns.

Enfin si au milieu de Czapek liquide normal on ajoute 2 gr. pour 1000 de peptones il y a un très bon développement. Les colonies forment des petites barquettes tortueuses blanches.

Bouillon nutritif : Le développement est lent et faible. Le plus souvent il se forme un amas blanc granuleux au centre d'un diamètre de 2 à 3 mm puis une auréole de même aspect.

Milieu glycériné de Mangin : Le développement est aussi très faible et très lent, il forme un simple voile blanchâtre. Au microscope on constate de nombreuses formes pénicilloïdes, peu ou pas de formes aspergilloïdes, ni de péc rithèces (d'ailleurs observés dans aucune culture).

Lait écrêmé : Le développement est aussi très faible. Il se fait sous forme d'un voile ressemblant à un voile bactérien, mais sur lequel poussent de très longs filaments blancs enchevêtrés et denses. La caséine du lait est attaquée et le sérum est jaune d'or.

Le fait que cet aspergille isolé du lait se développe mal sur ce milieu semble prouver que son habitat naturel n'est donc pas le lait. Peut-être peut-on supposer alors l'un des éléments pouvant le souiller, excréments, paille fourrages, comme étant la cause de son apparition sur le lait.

TABLEAU COMPARATIF : (voir p. 78 et 79).

IDENTIFICATION :

D'après l'étude détaillée de RAY (66), la description de THOM (64) et nos observations personnelles il est évident que cette espèce est excessivement polymorphe. C'est ce qui explique les différences entre les descriptions de BAINIER, SACCARDO et RAY sur le St. alba (VAN TIEGHEM).

Nous désignerons tout simplement la souche E.N.A.R. N° 169 sous le nom d'Aspergillus candidus (LINK) selon THOM. Notre souche semble aussi être absolument semblable au Stérigmatocystis alba décrit par RAY et que THOM considère comme synonyme.

E - Groupe des Aspergillus niger

Le terme "Aspergillus niger" est communément utilisé pour désigner les aspergilles à têtes noires ou très foncées. Nombre d'auteurs ne précisent pas plus leur pensée et se contentent de dire par exemple "nous avons utilisé " l'aspergillus niger bien connu depuis RAULIN", ou encore "qu'il est inutile de décrire". Or, sous ce nom se trouvent classés de très nombreuses espèces d'aspergilles diffèrent entre eux par des détails de structure morphologique. C'est ce qui explique qu'initialement les descriptions de l'aspergillus niger ne concordaient pas toutes.

VAN TIEGHEM (67), étudiant la transformation lente au contact de l'air, du tanin en acide gallique, découvre que deux champignons en sont responsables : le pénicillium glaucum et :" un aspergille à spores hérissées, voisin par" "conséquent de l'A. glaucus, mais qui, par la couleur noi-" "râtre que ces spores donnent couramment dans les milieux " "les plus divers, et par quelques autres caractères a paru" "constituer une espèce distincte et nouvelle" qu'il appelle Aspergillus niger.

Cependant il faut rappeler que MICHELI avait trouvé un aspergille noir qu'il appelait "A. capitatus capitulo pulla". D'autre part, ROBIN en 1848 (68) avait décrit un aspergillus à spores noires : l'A. nigrescens, ainsi que WREDEN (69) : l'A. nigricans.

Mais déjà en 1854, l'aspergille décrit par VAN TIEGHEM semblait bien avoir déjà été aperçu (70). En effet, LAROQUE note "des flocons albumineux dans les solutions de" "tanin et qui, examinés au microscope, se présentent sous" "forme de buisson d'où partent des branches qui se répan-" "dent assez loin". C'était précisément le mycélium de la moisissure de VAN TIEGHEM. A la même époque, ROBIQUET, aussi a vu "ces flocons de nature albuminoïde qui avec la potasse" "donnent un dégagement sensible d'ammoniac". Mais il n'avait pas examiné ces flocons au microscope comme LAROQUE, et l'auteur en concluait que c'était des flocons de pectase, existant dans la noix de galle, entraînés à l'état soluble dans la préparation de tanin et se reprécipitant sous forme insoluble...

Après cette parenthèse amusante, il convient de reconnaître que la première description sérieuse est celle de VAN TIEGHEM qui sera reproduite dans le tableau comparatif (p. 88 et 89. Toutefois, si un grand nombre d'espèces présentent les caractères généraux de cette descrip-

tion, un plus grand nombre encore encore en différent quoique l'apparence macroscopique soit à peu près similaire. Il faut tabler aussi sur les mutations et les variations très nombreuses dans ce groupe et qui viennent allonger la liste déjà importante des espèces noires. Il est à peu près impossible d'interpréter un grand nombre de descriptions d'auteurs parce que insuffisantes, incomplètes ou sans précisions, quant aux conditions de culture. C'est pourquoi THOM n'admet dans ce groupe que des formes à caractères bien définis et facilement identifiables. A la clef de détermination de MOSSEAY, qui nous a semblé trop arbitraire nous avons préféré celle de THOM qui définit ainsi le groupe niger :

Têtes conidiennes noir charbon, noir brunâtre ou pourpre brun. Certains mutants présentent des teintes grises mais jamais incolores. Les têtes sont typiquement globuleuses mais en certaines cultures il peut y avoir des têtes très petites. Dans les cas extrêmes elles sont composées de peu de stérigmates supportant les chaînes de conidies.

Les conidiophores sont lisses, incolores ou teintés légèrement en brun jaune dans le 1/3 supérieur au moins.

Les vésicules globuleuses sont fertiles sur toute la surface dans les têtes de grande dimension, dans les autres elles sont souvent réduites à un simple dôme sur de courts conidiophores (fumigatoïde).

Il existe des séries à doubles stérigmates et d'autres à stérigmates simples. Les conidies rugueuses sont toujours noires ou brun noir.

Certaines souches présentent des sclérotes.

Parmi les séries a stérigmates doubles, il y a une série à conidies de diamètre de 5 microns maximum : la série niger, et une série à conidies de diamètre supérieur à 5 microns : la série carbonarius.

1 - Série niger

Dans cette série se classent des espèces comparables ou voisines du type décrit par VAN TIEGHEM.

- Souche E.N.A.R. N° 155 (Pl.IV)

Origine : Cette espèce a été isolée de grains de café en provenance du Togo.

Caractères microscopiques :

Les conidies doublent au moins leur diamètre au moment de la germination (fig.1). Celle-ci a lieu assez rapidement : 30 pour 100 de germination à 12 heures, 50 pour 100 à 18 heures. Dès 20-21 heures (fig.2) les filaments mycéliens atteignent 200 à 250 microns de long. Ils sont sinueux à parois minces, leur protoplasme est homogène, non granuleux. Ils sont déjà très ramifiés mais encore peu cloisonnés. De 24 à 30 heures (fig.3) ils ont formé un enchevêtrement très serré, ils sont alors très ramifiés et d'assez nombreuses cloisons se distinguent nettement, le protoplasme est toujours homogène. Le diamètre moyen des filaments est de 2 microns,5. A 36 heures les cloisons sont de plus en plus nombreuses. Certains filaments atteignent 3 microns voire 3 microns,5 et sont composés d'articles à protoplasme granuleux.

De 42 à 48 heures, les cellules de base se différencient très nettement et les conidiophores font leur apparition (fig.4). Ils sont lisses, très droits, incolores, examinés à la binoculaire ils sont brillants et ressemblent à du verre étiré. Leur paroi est épaisse jusqu'à 1 micron. Le protoplasme est toujours excessivement granuleux (fig. 4 à 8). Les conidiophores ne sont jamais cloisonnés et leur diamètre moyen est de 10 à 12 microns, leur longueur s'étageant de 500 à 700 microns.

Les têtes conidiennes sont typiquement sphériques de texture extrêmement compacte serrée et brun noir. A maturité elles font généralement 200 microns de diamètre.

La vésicule est essentiellement sphérique et atteint fréquemment 30 à 35 microns de diamètre.

Les stérigmates primaires naissent simultanément sur toute la surface de la vésicule (fig. 5). Ils sont très serrés les uns à côté des autres. Adultes ils ont plutôt une forme trapézoïdale la petite base s'insérant sur la vésicule et leur axe d'implantation suit le rayon de la vésicule (fig. 8 et Pl. III fig.7). Leur protoplasme est généralement non granuleux et non vacuolé. Nous avons eu pendant un certain temps une souche très voisine de celle-ci (E.N.A.R. N° 155 bis) qui présentait constam-

ment des stérigmates à protoplasme vacuolé. Malheureusement cette souche a été perdue. Les stérigmates primaires mesurent couramment de 7 à 10 microns sur 2 à 3 microns

Les stérigmates secondaires, généralement par 3, ont une forme assez caractéristique. Ils sont très souvent en forme de massues mais terminés par un col très mince allongé et parfois flexueux (fig 8) . Leurs dimensions courantes oscillent entre 6 à 9 microns x 2 à 2 microns, 5.

Les conidies sont toujours sphériques, à parois peu épaisses brun foncé, très finement echinulées et d'un diamètre moyen de 2 microns, 5 à 3 microns, 5.

Il faut noter aussi vers le 5ème jour de nombreux filaments mycéliens élargis de 3 à 6 microns d'épaisseur (fig 9) présentant de nombreux articles de formes irrégulières à parois épaisses. Les parois des filaments eux mêmes sont aussi plus épaisses, ainsi que les cloisons transversales.

Il n'a jamais été rencontré de sclérotes, ni de périthèces.

Caractères macroscopiques :

Milieu nutritif gélosé neutre.- Le développement est assez rapide quoique irrégulier. D'une façon générale la sporulation s'effectue après 48 heures, mais il arrive souvent qu'il y ait un retard de 24 heures sans qu'aucune cause n'ait pu être décélée telle que différence de hauteur de la boite de Pétri, différence de maturité des spores d'ensemencement, différence de quantité de spores ensemencées, quantité de milieu, etc... Toutefois à plusieurs reprises ce retard concordait avec une période de dépression barométrique mais le fait n'ayant pas été absolument constant et n'ayant pas été observé sur d'autres souches, il ne peut être retenu d'une façon certaine.

Habituellement donc, il se forme un mycélium blanc mat parfois légèrement jaune orange très clair. Rapidement l'apparition des têtes conidiennes extrêmement abondantes donnent un aspect très finement granuleux, poussièreux, d'abord bistre foncé n° 116. Malgré l'abondance de fructification : les têtes sont relativement distinctes. La couleur change ensuite pour devenir noir brunâtre n° 312 et sépia n° 681.

Le revers d'abord blanc très plissé, devient jaune vert, puis crême foncé, fauve et enfin brun orange.

PLANCHE IV

Du 2ème jour au 6ème jour la culture dégage une odeur nauséabonde.

Milieu nutritif gélosé acide.- Cette espèce se développe très bien sur ce milieu ou elle présente les mêmes aspects successifs que sur gélose neutre.

Milieu nutritif gélatiné (à 15°C).- Le mycélium se développe en formant une petite cupule. Les fructifications sont très nombreuses et sépia n° 68I. Le revers est très plissé et présente de nombreuses circonvolutions jaune vert.

La gélatine est liquéfiée énergiquement dès le 5ème jour et une odeur fétide très désagréable se dégage.

Milieu de Szapek gélosé.- Le mycélium s'étend rapidement en 24 à 48 heures. La strie large de 3 à 4 mm le 1er jour en fait 6à 7 le 2ème jour et couvre toute la surface au 4ème ou 5ème jour. Le mycélium est blanc mat parfois légèrement jaune.

Le 3ème jour les fructifications apparaissent peut être plus serrées que sur milieu nutritif gélosé neutre. La surface devient alors granuleuse brun noir puis sépia n° 68. Le 5ème jour la surface est finement granuleuse et toujours sépia n° 68, elle présente de nombreuses perles incolores. Le revers est très fréquemment blanc mais vers 3 ou 4 semaines il devient orangé à fauve. Comme sur milieu nutritif gélosé, il se dégage une odeur désagréable.

Pomme de terre.- La pomme de terre est très rapidement recouverte par le mycélium blanc qui fructifie ainsi tôt, la teinte serait peut être un peu plus foncée que sur les autres milieux.

Bouillon nutritif.- Au départ le développement est généralement plus lent mais finalement il se forme un voile mycélien assez épais onduleux qui se couvre très vite d'une fructification intense sépia n° 68I.

Milieu de Czapek liquide.- Vers 30 à 32 heures un voile mycélien continu est complétement formé. Il prend par la suite le même aspect que sur bouillon nutritif. Cependans les têtes conidiennes sont moins serrées que précédemment.

Milieu de Czapek liquide lactosé.- Le développement est beaucoup plus lent et moins important. Le voile mycélien

- TABLEAU COMPARATIF -

A. niger (VAN TIEGHEM)(70)	St. nigra (Van Tieghem) par BAINIER (65)
Flocons en surface, en disques, formés par enchevêtrement mycélien constituant finalement une membrane continue.	Noir brun
Têtes : formées de chaînes conidiennes accolées formant des faisceaux prismatiques.	?
Conidiophores : simples continus cylindriques protoplasme granuleux 1000 x 11 à 16 microns.	?
Vésicules sphériques	?
Stérigmates : en une série rayonnante sur toute la vésicule, serrés, 12 - 15 microns x 2 microns,5.	St. primaires : 46 microns St. secondaires : 8 microns ,4.
Conidies : sphériques verruqueuses jaune citron d'abord puis brun chocolat de plus en plus foncé et quelquefois noir 4 à 5 microns.	hérissées, noir brun (kermès) sphériques 4 microns,2

- TABLEAU COMPARATIF -

Aspergillus foetidus (THOM)	Souche E.N.A.R. N° 155
Croissance plutôt lente. Lycélium floconneux blanc parfois jaune orange, têtes abondantes mais peu serrées, brunes ; revers fortement orange odeur fétide.	Croissance irrégulière. Lycélium blanc rarement jaune orange. Têtes abondantes mais distinctes finalement sépia N° 681. Revers blanc puis, jaune crème fauve et brun orange, odeur fétide.
têtes sphériques : 225 microns.	sphériques : 200 microns
lisses incolores, longs de 500 microns.	lisses, droits, continus parois épaisses protoplasme granuleux, incolores, 500 - 700 microns x 10 - 12.
sphériques 20 - 30 microns ou encore beaucoup plus larges.	typiquement sphériques 30-35 microns.
7 - 10 microns x 2 - 4 microns.	rayonnants serrés, trapézoïdaux 7 - 10 microns x 2 - 3 microns.
7 - 10 microns x 2 - 4 microns/	par 3, massues à col allongé 6 - 9 microns x 2 - 2,5
globuleuses spinulées jusqu'à 4 microns.	sphériques, brun foncé, finement échinulées 2,5 à 3 microns,5

moins épais, plus ténu ne sporule qu'au 4ème jour et les fructifications restent clairsemées par rapport aux cultures précédentes.

Milieu de Szapek liquide au lactose préalablement hydrolysé.- Le développement est semblable à celui sur bouillon nutritif ainsi que l'aspect et la couleur.

Milieu glycériné de LANGIN.- Les cultures restent assez faibles et à sporulation clairsemée mais toujours sépia n° 68I. Il n'a jamais été observé de sclérotes ni de périthèces.

Lait écrémé.- Cette souche se développe très bien sur ce milieu. Le mycélium s'y forme en sorte de poches concaves fructifiant à l'intérieur. La sporulation y est intense et de teinte plus foncée que sur les autres milieux Le peptonisation est active dès le 4ème ou 5ème jour et se poursuit en donnant un aspect stratifié aux couches de caséine. Le sérum est d'abord incolore, puis jaune citron limpide, il se dégage fréquemment des bulles de gaz, l'odeur fétide y est assez forte

TABLEAU COMPARATIF : (voir p. 88 & 89)

IDENTIFICATION.-

Il semble que la souche E.N.A.R. n° I55 puisse être apparentée à l'aspergillus foetidus de THOM. Il convient de préciser à cet effet que l'A. aureus (NAKA-ZAWA) est considéré comme synonyme alors que les aspergillus aureus (BERKELEY) et sterigmatocystis aurea (GRIGO). diffèrent de l' asp. foetidus selon THOM.

- Souche E.N.A.R. N° I52 -

(Pl. III) (a)

Origine: Cette souche a été isolée de grains de riz non décortiqués en provenance d'Indochine.

Caractères microscopiques .-

Les conidies à la germination, augmentent relativement peu de volume et donnent naissance généralement à un seul tube germinatif (fig.1). Dès 18 heures la germination est

(a) La figure 7 de la planche III appartient à la souche E.N.A.R. n° I55.

PLANCHE III

assez féconde puisqu'elle avoisine les 2/3. Trois heures plus tard les 9/10 des spores ont germé. Les filaments se sont déjà accrus sensiblement, certains atteignent 100 microns. A 24 heures ils forment de très nombreux méandres (fig.2) et annoncent un enchevêtrement assez serré. Quelques rares cloisons se distinguent déjà, le protoplasme est homogène, non granuleux et les filaments ont en moyenne 1 micron,5 à 2 microns d'épaisseur. A 30 heures le mycélium est composé de filaments semblables aux précédents (sans doute les plus jeunes) et de filaments plus gros d'environ 3 microns de diamètre à parois plus épaisses et présentant des cloisons transversales épaisses très visibles et protoplasme abondamment granuleux (fig.3). Puis à partir de 36 heures tous les filaments mesurent 2 microns,5 à 3 microns d'épaisseur, ils sont très fortement cloisonnés ; certains articles renferment un protoplasme très granuleux, d'autres semblent vides (fig.4). Vers 39 à 45 heures, les conidiophores naissent des filaments mycéliens très vacuolés, et de forme assez irrégulières. La cellule de base est généralement peu visible du fait que le conidiophore a une largeur presque égale à la longueur de la cellule de base (fig.5).

Les conidiophores sont lisses, incolores, droits, hauts de 1 mm à 2mm,5. Leur paroi est épaisse, le protoplasme grossièrement granuleux à la base est finement granuleux au sommet, mais lorsque la tête conidienne a atteint sa maturité, le protoplasme du conidiophore est uniformément granuleux à gros grains irréguliers. Le diamètre moyen du conidiophore adulte est de 10 microns.

Les têtes conidiennes sont typiquement sphériques et jaunâtres lorsqu'elles sont jeunes. Elles croissent rapidement en volume et atteignent fréquemment 300 à 350 microns. A ce moment d'ailleurs, les chaînes conidiennes sont réunies en faisceaux prismatiques distincts et rayonnants autour de la vésicule. L'ensemble de la tête est sphérique, composé de faisceaux rayonnants inégaux en épaisseur. De 48 à 60 heures, l'évolution de la fructification se poursuit (fig. 6a à f - fig.8). La vésicule typiquement sphérique fait communément 30 microns de diamètre et quelquefois plus.

Les stérigmates primaires couvrent très rapidement toute la surface vésiculaire. Adultes ils sont de forme assez régulière trapézoïdale presque triangulaire, de 7 à 10 microns sur 3 à 4 microns dans leur plus grande largeur. Ils sont très serrés et disposés radiairement sur la vésicule (coupe optique fig.8).

Les stérigmates secondaires groupés par 3 à 5 au sommet des stérigmates primaires présentent la forme de petits flacons peu ventrus. Ils mesurent couramment 4 à 8 microns sur 1 micron,5 à 2 microns,5.

Les conidies (fig.1 et 8) sont très rarement elliptiques. Au contraire elles sont très fréquemment sphériques de 3 à 4 microns. Leur paroi est épaisse, la membrane extérieure est assez fortement spinulée et de couleur brun chocolat foncé.

Il faut signaler que pendant les 3 ou 4 premiers mois la dimension des conidies était couramment de 4 à 5 microns, les stérigmates primaires et secondaires étaient aussi plus grands que les normes indiquées ci-dessus. Mais celles-ci s'étant maintenus constamment depuis 18 mois nous les citons donc de préférence aux dimensions primitivement observées.

Il n'a jamais été observé de sclérotes ni de périthèces.

Caractères macroscopiques :

Milieu nutritif gélosé neutre : La croissance est assez rapide, un mycélium blanc s'étalant rapidement va donner après sporulation un aspect granuleux haut de 1 à 2mm d'abord jaune, jaune brun pour devenir brun sépia proche de sépia n° 681. La fructification est intense et recouvre toute la surface. Le revers est généralement blanc mais quelquefois jaune orange. Aucune odeur n'est constatée.

Milieu nutritif gélosé acide : La croissance est tout aussi rapide et la fructification tout aussi abondante dès 48 heures. La culture revêt donc le même aspect et prend la même teinte que sur le milieu précédent.

Milieu nutritif gélatiné (à 15°C) : Il se produit un très abondant mycélium blanc très mamelonné au revers. La sporulation est intense et brun foncé comme précédemment.

La gélatine commence à liquéfier entre le 10ème et le 13ème jour.

Milieu de Czapek gélosé : Le développement est assez rapide. Dès 24 heures la strie est déjà bien marquée par un mycélium blanc. A 48 heures la strie atteint 4mm de

large mais reste peu saillante au-dessus de la surface. Puis quelques heures plus tard apparaissent les fructifications qui vont donner un aspect granuleux relativement ras. La teinte est alors brun noir chocolat foncé pour devenir au 3ème jour sépia noir. Au 5ème jour la surface, toujours rase, est finement granuleuse chocolat foncé. Il y a quelquefois des perles incolores. Le revers est blanc ou faiblement jaunâtre, et la culture est pratiquement sans odeur.

Pomme de terre : En 24 heures apparaît un mycélium blanc touffu haut de 1mm. En 48 heures il atteint 2mm de haut et la sporulation est intense. Plus foncée que sur les autres milieux, la couleur est noir de bougie n° 641. De même l'aspect est plus grossièrement granuleux.

Bouillon nutritif : La surface est très rapidement recouverte et prend le même aspect que sur milieu nutritif gélosé neutre.

Milieu de Czapek liquide : Le développement subit un léger retard, les fructifications apparaissent au plus tôt au bout de 50-52 heures, la surface de la colonie présente une gradation plus lente du jaune brun au brun chocolat, teinte qui n'est atteinte qu'au 3ème jour à 78 heures.

Milieu de Czapek liquide lactosé : Le développement est encore plus lent et moins important.

Milieu de Czapek liquide au lactose préalablement hydrolysé : Ici nous retrouverons le même développement rapide et important et le même aspect que sur bouillon nutritif.

Milieu glycériné de Langin : Le développement est normal, l'aspect identique aux cultures sur milieu nutritif gélosé. Il n'y a pas de périthèces.

Lait écrémé : Il y a un très bon développement. Le mycélium immergé est assez abondant et excessivement mamelonné. En surface il se produit une fructification intense, serrée, plus foncée que sur les autres milieux, noir de bougie n° 641.

La peptonisation commence entre le 5ème et 8ème jour pour être complète en 1 mois à 5 semaines. Le sérum incolore au début devient jaune d'or limpide.

TABLEAU COMPARATIF : (voir page 96)

- TABLEAU COMPARATIF -

Asp. awamori (Nakazawa) d'après THOM	Souche E.N.A.A. N° 152
Pas de couleur jaune du mycélium, pas d'odeur, colonies brun noirâtre, chocolat foncé	Croissance rapide, jaune brun, sépia, chocolat foncé granuleux plutôt ras, revers blanc, pas d'odeur.
Têtes conidiennes : ?	sphériques radiées par gros faisceaux 300-350 microns
Conidiophores : 1 - 2mm,5 x 9 - 15 microns.	lisses incolores, droits, 1-2mm,5 x 9-11 microns.
Vésicule : globuleuse 30 - 45 microns.	sphérique 30 microns ou plus
Stérigmate primaire : 9 - 12 microns x 3,5 - 5,5	trapézoïdaux, réguliers 7 - 10 microns x 3 - 4
Stérigmate secondaire : 4,5 - 8 x 1,5 - 3 microns,5	par 3 à 5 ; 4 - 8 x 1,5 - 2 microns,5
Conidies : globuleuses quelquefois elliptiques complètement spinulées, 3 - 5 microns.	Rarement elliptiques, sphériques fortement échinulées brun chocolat, 3 à 4 microns
Ni sclérotes, ni périthèces	ni sclérotes, ni périthèces

IDENTIFICATION :

En résumé cette souche E.N.A.R. N° 152 est très proche de la précédente (E.N.A.R. N° 155). Son absence d'odeur, son mycélium blanc rarement jaune et quelques différences de mensuration l'en séparent et permettent de l'apparenter à l'Asp. awamori (NAKAZAWA) d'après THOM.

- Souche E.N.A.R. N° 154 - (Pl. II)

Origine : La précédente souche ayant présenté quelques différences avant le début de nos essais un nouvel isolement a été effectué en partant de cette souche impure. C'est ainsi que l'espèce E.N.A.R. N° 152, qui vient d'être décrite, a pu être récupérée et que la souche E.N.A.R. N°154 a été isolée.

Caractères microscopiques :

Les conidies germent très tôt vers la 15ème heure, en ne se dilatant pas ou fort peu (fig.1). Elles ne donnent naissance qu'à un seul tube germinatif rarement deux. Ceux-ci se ramifient peu et à 21 heures atteignent quelquefois 100 microns (fig. 2 et 3). A ce moment leur épaisseur est de 1 micron,5 ils sont peu cloisonnés et le protoplasme est homogène non granuleux. Cependant dès 24 heures le mycélium est formé de filaments très entremêlés longs de 200 à 300 microns, mais il y a encore une proportion de 2/10 de spores non germées. A 27 heures la trame est de plus en plus serrée, les filaments sont toujours fins. Vers 30 - 33 heures ceux-ci commencent à se modifier (fig.4). Leur épaisseur augmente, ils se cloisonnent, et certains deviennent granuleux. A 36 heures ils atteignent leur taille normale soit environ 3 microns, ils sont cloisonnés par des membranes épaisses et sont très granuleux (fig.5). Quelques uns se vacuolisent. Vers 45 heures apparaissent les conidiophores. Les cellules de base sont fréquemment très visibles (fig.6).

Les conidiophores sont lisses, très légèrement sinueux, atteignent et dépassent 1mm. Ils sont généralement incolores mais il n'est tout de même pas rare de constater une teinte gris jaune mat à la partie supérieure près de la tête alors que la base est brillante incolore. A l'insertion sur la cellule de base ou sur le filament mycélien ils présentent souvent un rétrécissement, ce qui fait que la largeur à cet endroit va de 3 microns,5 à 6 microns maximum. Au sommet le diamètre moyen est de 9 microns. Leur paroi estépaisse de 1 micron à 1 micron,2 et leur protoplasme abondamment granuleux. En outre, au moment de l'apparition

des conidiophores il est constaté très fréquemment d'abondants cristaux d'oxalate de Ca dans le milieu.

Les têtes conidiennes sont sphériques (quelquefois presque hémisphériques) de texture compacte, brunâtre, d'un diamètre moyen de 100 microns.

La vésicule est plutôt elliptique de 22 microns x 15 microns.

Les stérigmates primaires s'insèrent radiairement sur toute la surface vésiculaire (fig. 7 à 9). Ils ont la forme trapézoïdale et mesurent 7 à 8 microns de long sur 2 microns,5 à 5 microns dans leur plus grande largeur.

Les stérigmates secondaires au nombre de 2 ou 3 sur chaque st. primaire ont la forme en bouteille assez ventrue de 7 à 8 microns x 2 microns,5 à 3 microns.

Les conidies sont sphériques, à parois épaisses, échinulées, brun jaune d'un diamètre moyen de 4 microns.

Il n'a jamais été observé ni sclérotes ni périthèces. Très fréquemment il y a des vésicules plus petites fertiles sur la moitié supérieure seulement (fig. 10 -11). Dans ces cas là le stérigmate primaire ne porte souvent qu'un seul stérigmate secondaire.

Caractères macroscopiques :

Milieu nutritif gélosé neutre : Il se forme un feutrage léger, blanc, haut duveteux. La fructification se produit assez rapidement mais comme elle reste très clairsemée, peu abondante, elle donne à la culture un aspect différent des autres souches de niger déjà étudiées. Ici l'aspect reste floconneux blanchâtre et, dilué au milieu de cela une teinte sale jaune brunâtre quasiment indéfinissable du fait de sa dissémination. Le revers est blanc.

Milieu nutritif gélosé acide : Le développement est identique etaussi rapide, cependant les hyphes aériens du mycélium forment un duvet pouvant atteindre 5mm de haut. La sporulation est aussi clairsemée que dans le milieu précédent.

Milieu nutritif gélatiné (à 15°C) : Ce milieu ne semble guère convenir, le développement est assez lent, le mycélium forme de grosses circonvolutions blanc gris, la sporulation est extrêmement faible. La gélatine commence à liquéfier vers la fin de la 3ème semaine mais la liquéfaction

PLANCHE II

n'est jamais poussée très loin.

Milieu de Czapek gélosé : Le développement est encore faible au bout de 48 heures. C'est seulement à la fin du 3ème jour qu'apparaît la fructification habituelle très clairsemée, cependant le nombre d'appareils sporifères s'accroît ensuite très lentement. Vers le 5ème jour, bien que plus abondante que sur les milieux précédents, la sporulation est loin d'atteindre l'intensité des autres souches de la série niger. La teinte à ce moment est brunâtre, largement délayée dans le mycélium blanc haut, cotonneux. Vers le 7ème jour la sporulation s'est encore un peu accrue mais elle se présente d'une façon dense par taches éparses seulement. Ces taches sont plutôt brun clair. Au 12ème jour il y a peu de changement si ce n'st qu'à certaines places un mycélium très fin repousse par touffes blanches. A ce moment apparaissent très souvent des perles améthyste très foncées. De nouvelles repousses blanches sont constatées au 15ème jour dans les taches brunes ; à ces places correspond dans le milieu, la diffusion d'un pigment brun rouge.

Pomme de terre : L'aspect est toujours le même : mycélium touffu, haut laineux, blanc s'étalant sur toute la surface, la sporulation est clairsemée.

Bouillon nutritif : Il se forme un voile assez abondans présentant le même aspect que sur milieu nutritif gélosé neutre.

Milieu de Czapek liquide : Même aspect que sur bouillon nutritif. La sporulation est strictement marginale en boîte de Pétri et ne se produit qu'entre le 6ème et le 7ème jour.

Milieu de Czapek liquide lactosé : Il se forme un mycélium jaune soufre peu abondant. La fructification peu abondante est presque noire. Il n'a pas été constaté de sclérotes ni de périthèces. Les spores nouvellement formées germent très fréquemment et très rapidement sur les têtes conidiennes même (constaté au microscope).

Lait écrémé : Cette espèce végète très lentement sur ce milieu où la sporulation est encore plus rare.

Le lait n'est pas modifié. Il est curieux de constater que c'est la seule souche liquéfiant la gélatine et ne peptonisant pas la caséine.

TABLEAU COMPARATIF : (voir page 102)

- TABLEAU COMPARATIF -

A. miyakoonsis d'après THOM	St. psoudo nigra (COSTANTIN-LUCET) (71)	Souche E.N.A.R. N° 154
Pas d'odour, mycélium cotonneux blanc avec têtes fructifères à longues tiges dans une zone sur le bord des boîtes de Pétri ; têtes très dispersées.	Feutrage léger blanc peu de têtes fructifères n'envahissant jamais complètement- parfois plus denses mais par taches.	Mycélium blanc, haut, lainoux. Fructification généralement très faible gris brunâtre, jaune brun à brun noir, parfois spor. par taches plus denses jamais recouvrant entièrement le mycélium.
Têtes fructifères ?	72 microns (spores non comprises).	sphériques 100 microns.
Conidiophores : longues tiges ?	incolores, parfois 1/3 supérieur ochracé; jeunes 480; adultes 1000-1380 x base: 4,8 ; sommet 8 microns.	lisses, incolores, léger. sinueux 1mm parfois gris jaune partie supér. Base 3,5-6 microns; sommet : 8-10 microns
Vésicule : ?	arrondie(?) 24 par fois 32 microns(?)	elliptique 22 x 15 microns.
Stérigmates primaires: 12-20 x 4-9 microns.	D'une part ensemble baside et stérigmate = 14, d'autre part l'auteur dit :	St. primaires : 7-8 x 2,5 - 5 microns.
Stérigmates secondaires : 7-10 x 2,5-5 microns.	baside et stérigmate 36, enfin : baside septé 16 x 3,2 à 8microns. Stérigmates par 5 ou moins non définis.	St. secondaires : par 2 ou 3,7-8 microns.x 2,5-3
Conidios : 3,7 à 5 microns,6	noires, brun ochracé foncé sphériques échinulées, 4 microns.	sphériques, échinulées, brun jaune 4 microns.

IDENTIFICATION :

Il est certain que selon la clef de détermination de THOM la souche E.N.A.R. N° 154 se classe dans la série A. miyakoensis, c'est-à-dire, des aspergilles noir brun à stérigmates en deux séries (le stérigmate primaire plus petit que 20 microns), conidies plus petits que 5 microns, les colonies étant sans odeur et présentant une fructification dispersée. Cependant la description même du type A. miyakoensis est trop imprécise.

D'autre part, le St. pseudo nigra correspondrait assez bien, malheureusement, la description des vésicules et stérigmates est un peu confuse et leur mensuration trop imprécise.

Afin de respecter la terminologie jusqu'ici employée nous proposons le nom d'Aspergillus pseudo-niger pour notre souche E.N.A.R. N° 154.

- 2 - Série carbonarius -

Cette série est caractérisée par les espèces possédant des conidies excédant 5 microns de diamètre, les stérigmates étant en deux séries.

- Souche E.N.A.R. N° 151 (Pl.I)

Origine : Cette souche a été isolée de grains de riz en provenance de la région de Brazzaville.

Caractères microscopiques :

Les conidies germent, en se dilatant fort peu, dès 12 heures. Elles ne donnent généralement qu'un ou quelquefois deux tubes germinatifs (fig.1). Contrairement à toutes les espèces examinées jusqu'alors, le jeune filament mycélien est déjà très épais (3 microns de diamètre) et il se cloisonne immédiatement. Les parois sont épaisses ainsi que les cloisons transversales nombreuses, le protoplasme est homogène non granuleux. A 18 heures, la germination est quasi totale, le pourcentage étant de 95 à 98 pour cent et certains filaments mycéliens ont déjà 100 microns et plus de long. A 24 heures (fig.2) le mycélium est composé de filaments larges de 3 microns,5 très ramifiés et très cloisonnés. A 27 heures ils ont atteint leur épaisseur normale 3 microns,5 à 4 microns. L'extrémité des filaments mycéliens

est très caractéristique (fig. 3 et 4). Généralement en effet l'article terminal se termine par deux branches séparées par un intervalle à paroi épaisse à leur intersection de base (fig. 3 et 4). Ces espèces de fourches terminent presque tous les filaments. Les parois sont toujours épaisses. Les cloisons sont toujours très nombreuses. Finalement le mycélium vers 40 heures, est formé d'articles bien séparés par les cloisons (fig.5). Le protoplasme est homogène mais certaines cellules commencent à vacuoliser.

Les cellules de base sont très distinctes et donnent naissance aux conidiophores vers 42 - 45 heures, mais assez souvent dès 30 à 36 heures. Ceux-ci sont lisses, incolores, parfois gris foncé à la partie supérieure, très droits, longs de 1500 à 2000 microns parfois un peu plus. Leur épaisseur d'abord de 8 à 10 microns (fig.6) atteint à maturité vers 48 heures, 15 et même 20 microns (fig.7). La paroi est très épaisse, très couramment d'1 micron,5 et le protoplasme excessivement granuleux à gros grains irréguliers.

Les têtes conidiennes sont, elles aussi, très caractéristiques. Elles sont, si l'on veut, sphériques mais, constituées par des longues chaînes conidiennes sinueuses abondantes mais quand même bien distinctes les unes des autres. Par leur enchevêtrement et leur sinuosité elles donnent à la tête conidienne la forme d'une grosse touffe granuleuse noir charbon, échevelée, ébouriffée d'un diamètre allant de 350 à 500 microns.

La vésicule est nettement sphérique . La fig. 6 la représente dès saformation alors qu'elle n'a pas encore atteint sa taille normale. La fig.8 n'en représente qu'une portion. A maturité la vésicule mesure couramment 40 microns de diamètre.

Les stérigmates sont en deux séries. La fig. 8 les représente dessinés environ 3 mois après l'isolement de la souche et sur une tête très jeune. A cette époque il était très fréquent de ne voir qu'un seul stérigmate secondaire sur le stérigmate primaire. Actuellement les stérigmates primaires sont un peu plus grands et plus trapézoïdaux, environ 20 microns de long (quelquefois jusqu'à 25 microns) sur 6 à 8 microns de large parfois un peu plus 10 à 12 microns à l'endroit de l'insertion des stérigmates secondaires. Ceux-ci ont toujours la forme représentée par la fig.8 mais un peu plus grands, en grosses bouteilles ventrues de 10 à 12 microns sur 5 microns parfois 6 microns de large. Ils sont groupés par 2 ou 3 sur le stérigmate primaire.

PLANCHE I

Les conidies sont sphériques et ont de 8 à 10 microns de diamètre (fig. 9 et 10).

Jeunes elles sont déja sphériques avec une paroi externe épaisse non encore verruqueuse mais se liant aux autres conidies par des disjoncteurs longs et flexueux (fig.9). Même à la binoculaire au grossissement 50, ces chapelets se distinguent très bien. Plus tard (fig.10), à maturité la paroi extérieure des conidies s'épaissit encore et se couvre de verrues formant saillies quelquefois atteignant presque le micron. Elles sont disposées très irrégulièrement. Toute la surface est noir jais ou noir charbon.

Les spores de cette souche germent très facilement et il est souvent constaté de nombreuses germinations de spores nouvellement formées dans le même milieu. Lorsque celui-ci commence à s'épuiser, les spores donnent naissance à de courts filaments portant encore assez souvent un appareil fructifère restreint et déformé (fig.11). Il n'a jamais été observé de sclérotes ni de périthèces.

Caractères macroscopiques :

Milieu nutritif gélosé neutre : Le mycélium blanc ne tarde pas à se montrer dès 18 à 24 heures. Il se présente sous la forme d'un duvet blanc vif, serré, touffu, Peu après une teinte jaune vert se distingue très nettement. Elle est provoquée par le début de la sporulation. Finalement la culture devient grossièrement granuleuse noir jais ou noir charbon. La fructification est très intense, on distingue très bien à l'oeil nu les têtes conidiennes excessivement nombreuses à 2 ou 3mm au-dessus du mycélium qui reste blanc. Dès le 3ème jour toute la surface est entièrement recouverte et prend un aspect grumeleux noir charbon. Très souvent des perles noires très brillantes apparaissent sur la culture alors qu'un pigment vert noir diffuse dans la gélose.

Milieu nutritif gélosé acide : Le développement et l'aspect sont exactement les mêmes.

Milieu nutritif gélatiné (à 15°C) : Le développement est aussi très rapide. La sporulation y est très abondante mais d'un noir plus terne. Les perles noires sont assez nombreuses.

Jamais il n'a été constaté de liquéfaction de la gélatine. Il diffère donc en cela des autres souches du groupe niger.

- TABLEAU COMPARATIF -

Série Carbonarius- sous-série Fonsecaeus d'après THOM.	St. carbonaria (BAINIER)(74)	St. fusca(BAINIER) (75)
Surface poudreuse noir charbon.	mycélium incolore donnant sporulation intense noir charbon.	Teinte brou de noix développement tardif
Têtes conidiennes ?	?	?
Conidiophores : ?	?	moins hauts que St. carbonaria(BAINIER) diamètre : 10 microns,5
Vésicule : 40 - 60 microns.	arrondie 31 microns, 5.	63 microns
St. primaires : 20-45 microns.	tronc de cône renversé 88 microns. 100-120 d'après THOM.	trapézoïdale, 27 microns,3 x 12 microns,6
St. secondaires 12 microns (?)	long.= 2 fois 1/2 diamètre d'une spore donc = 37 microns or d'après dessin joint à la publication : long. = 1 fois 1/3 le diam. de la spore donc = 20 microns.	12 microns,6
Conidies : 6 à 8 microns.	sphériques, noires 15 microns,munies d'aspérités de 1 micron,2 ; d'après THOM conidies de 5,5 à 10 microns,5	diamètre maximum 9 microns,4

- TABLEAU COMPARATIF -

Asp. pulchellus (THOM)(73) syn: Aspergillopsis pulchellus (SPEGGAZZINI 1911)	Souche E.N.A.R. N° 151
Colonie intensément noire, diffère de A. niger Van Tieghem.	Mycélium duveteux blanc, puis à la sporulation jaune vert vert noir et granuleux noir jais, noir charbon. Revers plissé blanc.
?	sphériques touffues échevelées noir charbon 350 à 500 microns
1 à 2mm x 18 microns - parois foncés.	1,5 à 2mm parfois plus x 15-20 microns, lisses, très droits, parois épaisses 1,5 in colores ou parfois gris foncé
50 à 60 microns.	sphérique 40 microns.
30 microns x 10 microns.	2o - 25 microns x 6-8 microns parfois 10-12 microns.
?	par 2 ou 3 ; 10 - 12 microns x 5 - 6 microns.
spheriques, rugueuses 8 à 10 microns.	sphériques, noir jais 8 à 10 microns, petites verrues d'a peine 1 micron.

Milieu de Czapek gélosé : Le développement est un peu plus lent au départ pendant le 1er jour, mais à 48 heures la strie, bien que large seulement encore de 3mm, commence à se couvrir de fructifications noires. Pendant un très court moment la teinte a été jaune vert. Le 3ème jour, la strie atteint 7mm de large et 2 à 3mm de haut. Elle est entièrement recouverte par les fructifications intenses noir charbon. Des perles très fines, brillantes, noires sont alors visibles. La surface est progressivement recouverte ensuite en gardant le même aspect. Le revers est blanc pur.

Pomme de terre : C'est un milieu de choix. En 36 à 48 heures la tranche de pomme de terre est entièrement recouverte par la moisissure qui présente le même aspect que précédemment. Cependant la fructification est encore plus serrée et les têtes conidiennes plus grosses. Elles se discernent très nettement à l'oeil nu, puisqu'elles mesurent environ 1/2mm sur ce milieu.

Bouillon nutritif - Milieu de Czapek liquide - Milieu de Czapek liquide au lactose hydrolysé :

Sur tous ces milieux il se forme un voile mycélien épais, blanc vif, plus ou moins plissé au revers, légèrement duveteux en surface. Dès 48 heures les conidiophores apparaissent, hauts de 1mm. En 3 à 4 heures les têtes conidiennes blanches passent au jaune, vert noir, puis noir charbon. A 60 heures la surface est entièrement poudreuse noir jais. Le milieu de culture prend une teinte vert noir relativement claire. Le développement est très abondant. Dès le 4ème jour une forte proportion de nouvelles spores germant, est constatée au microscope.

Milieu de Czapek liquide lactosé : Le développement est infime jusqu'au 8ème jour, il n'y a qu'un faible mycélium blanc sporulant faiblement vers le 4ème jour. Cependant un léger accroissement est encore constaté jusqu'au 14ème jour mais la culture reste toujours beaucoup moins importante que sur les autres milieux.

Milieu glycériné de MANGIN : Le développement est assez rapide mais le mycélium est peu abondant et fructifie très tôt, en donnant de grosses têtes conidiennes noir jais plus clairsemées que sur Czapek liquide mais plus nombreuses que sur Czapek lactosé. Les conidiophores atteignent souvent 4 à 5mm sur ce milieu.

Il n'y a jamais eu de périthèces ni de sclérotes.

Lait écrêmé : Le développement est normal. Il se produit un caillé à grains excessivement fins dès le 2ème ou 3ème jour. Le sérum est alors incolore. Puis la caséine est lentement peptonisée à partir du 6ème au 10ème jour, mais la peptonisation dépasse rarement la moitié du contenu (qui est de 10cc) même après deux mois. Parfois un pigment vert noir diffuse dans le sérum.

C'est la seule souche avec E.N.A.R. N° 180 (A. restrictus) ne liquéfiant pas la gélatine et peptonisant la caséine.

TABLEAU COMPARATIF : (voir pages 108 et 109)

IDENTIFICATION :

D'après la clef de détermination de THOM cette espèce se classe dans la série des A. carbonarius, sous-série fonsecaeus. Cet auteur attribuant la synonymie de A. carbonarius à St. carbonaria (BAINIER) et A. fonsecaeus à St. fusca (BAINIER), ces espèces ont été confrontées p. 108 & 109 Malheureusement il existe des différences entre les mensurations de THOM et de BAINIER. D'autre part, ce dernier donne des chiffres qui ne correspondent pas avec ses dessins ou vice-versa. Par contre, l'A. pulchellus (THOM) synonyme de l'Aspergillopsis pulchellus (SPEGGAZZINI - 1911) semble très proche de notre souche. THOM le classe dans la sous-série fonsecaeux.

Provisoirement donc nous apparenterons la souche E.N.A.R. N° 151 à l'Aspergillus pulchellus.

F - Groupe des Aspergillus Tamarii -

Ce groupe renferme toute une série de formes plus ou moins bien décrites et que l'on s'accorde généralement à reconnaître comme intermédiaires entre le groupe des Aspergillus wentii et le groupe des aspergillus flavus-oryzae.

Il se subdivise en deux séries :

- une série terricola à têtes jaune brun sombre, jamais vertes et
- une série Tamarii présentant des teintes transitoires vert olive.

De toute façon les têtes y sont généralement radiées

à texture lâche, les conidiophores incolores et plus ou moins rugueux, les vésicules fertiles sur la moitié supérieure, les stérigmates en une ou deux séries, et les conidies rugueuses. Certaines espèces ont des sclérotes.

- Souche E.N.A.R. N° 191 (Pl. V)

Origine : Cette souche a été isolée de grains de café en provenance du Togo.

Caractères microscopiques :

Les conidies germent très rapidement. Dès la 12ème heure (fig.1) 85 pour 100 des spores ont germé et donné naissance à un tube germinatif, rarement deux. Ceux-ci croissent rapidement. A 20 heures ils atteignent plusieurs centaines de microns (fig.2), ils sont très ramifiés et pas cloisonnés. Les filaments mycéliens ont à ce moment une paroi peu épaisse, un protoplasme non granuleux et un diamètre moyen de 2 microns. A 24 heures le protoplasme devient granuleux à petits grains assez peu serrés très réfringents. De 27 à 30 heures le tissu mycélien devient de plus en plus serré. Il est alors constitué par des filaments larges de 3 microns,5 en moyenne (fig. 3) à parois épaisses, et cloisonnés transversalement. Ces cloisons sont très visibles et de l'épaisseur de la paroi du filament. Le protoplasme est granuleux à grains très réfringents, certains articles cependant semblent vides de protoplasme.

Les conidiophores apparaissent dès 35 à 38 heures. Ils sont à parois épaisses et rugueuses, incolores, très droits, longs de 500 à 800 microns parfois plus. Le diamètre moyen est de 8 microns. Le protoplasme est toujours très granuleux à grains irréguliers.

Les très jeunes têtes conidiennes, sont hémisphériques compactes, blanches ; puis elles deviennent sphériques granuleuses jaune vert. Enfin à l'âge adulte elles sont brunes et composées de chaînes conidiennes rayonnantes peu serrées, ce qui leur donne l'aspect radié sphérique à branches plus ou moins sinueuses. Leur diamètre moyen est de 200 microns.

La vésicule est subglobuleuse, peut être légèrement ovale, et mesure environ 20 microns de diamètre quelquefois un peu plus. Elle est rarement fertile sur plus des 2/3 supérieur.

Les stérigmates en une série (fig. 4 à 6 et 10) se présentent comme des massues très régulières quant à la

PLANCHE V

forme et de dimensions assez constantes de 7 à 10 microns sur 3 à 4 microns.

Les conidies sphériques et lisses dès leur formation (fig. 5 et 6) présentent un court disjoncteur disparaissant rapidement. Adultes (fig. 1 et 10) elles sont sphériques à parois très épaisses, brunes, et présentant une surface externe extrêmement rugueuse d'abord verruqueuse puis donnant ensuite assez bien l'aspect extérieur d'un glomérule de betterave (toutes proportions gardées évidemment). Leur diamètre moyen est de 5 à 6 microns.

Il n'a jamais été observé de sclérotes, ni de périthèces. Dès le 2ème jour des têtes fructifères extrêmement réduites sont fréquemment constatées (fig.7) ainsi que quelques autres formes anormales (fig. 8 et 9) sur milieu épuisé (voir chapitre spécial).

Caractères macroscopiques :

Milieu nutritif gélosé neutre : Il se forme très rapidement en 24 heures un mycélium blanc, ras alors qu'au sommet du tube presque sur le verre il est plutôt duveteux et haut de 3 à 4 mm. La sporulation, qui se produit dès le 2ème jour donne à la strie un aspect granuleux à gros grains jaune clair indéfinissable mélangé de vert, puis elle devient vert broyé clair n° 216. Du 5ème au 8ème jour la teinte devient couleur bure n° 336 puis enfin vers le 15ème jour et après, châtain bistre n° 112. Le revers est fréquemment brun clair. Des repousses blanches sont très souvent constatées.

Au moment de l'isolement de cette souche, seule la première génération a donné un aspect différent de celui-ci ci-dessus. Dans le premier tube en effet la culture était finement granuleuse et immédiatement rouge brique foncé puis couleur rouille, le revers était blanc. Dès la deuxième génération la teinte et l'aspect ont été ceux décrits plus haut et qui se maintiennent sans changement depuis deux ans.

Milieu nutritif gélosé acide : L'aspect est le même quoiqu'un peu moins développé.

Milieu nutritif gélatiné (15°C) : Sur ce milieu le développement est très rapide et dès le 2ème jour il y a une culture granuleuse passant par les mêmes teintes que sur gélose. Le revers est excessivement plissé.

La liquéfaction de la gélatine commence énergiquement dès le 4ème jour pour être complète au bout d'un mois.

Milieu de Czapek gélosé: La germination est très rapide et la sporulation dès le 2ème jour donneune teinte vert bistre n° 26I. Parfois la sporulation est encore plus rapide et dans ce cas la culture prend plutôt une teinte cannelle n° 338.

Le plus souvent, la strie est légèrement saillante duveteuse et granuleuse tout à la fois. Au 3ème jour toute la surface gélosée est recouverte d'un tapis granuleux haut de 2 à 3 mm prenant une teinte vert lierre foncé n° 296. Puis au 5ème jours alors que les bords sont toujours vert lierre foncé n° 296 le centre devient vert houx n° 30I à ce moment il y a souvent quelques perles incolores. C'est vers le 6ème jour que la teinte commence à changer pour devenir couleur bure n336 puis finalement châtain bistre n° 111-n° 112. Le revers est alors brun.

Pomme de terre.- L'aspect est le même mais la strie s'étend plus lentement.

Bouillon nutritif- Milieu de Czapek liquide- Milieu de Czapek liquide au lactose préalablement hydrolysé.- Sur ces milieux il se forme rapidement un voile mycélien continu assez épais dès 26 à 30 heures mais qui assez souvent ne s'étend pas sur toute la surface libre de la boite de Pétri. Vers 36 heures une granulation assez serrée apparaît blanc jaune. La teinte devient jaunâtre à jaune ocre à 39 heures, verte à 50-56 heures, vert lierre foncé au 3ème jour. Puis elle commence à brunir légèrement au centre entre le 3ème et 4ème jour pour devenir franchement couleur bure au 6ème jour. Presque toujours la croissance s'arrête à 1 cm, 1 cm1/2 du bord.

L'aspect est très rarement floconneux mais presque toujours granuleux à grosses circonvolutions.

Milieu de Czapek liquide lactosé.- Le développement est plus lent au départ et la sporulation n'apparaît qu'au 3ème jour mais ensuite l'aspect est le même que sur les autres milieux.

Milieu glycériné de Mangin.- La culture présente le développement et l'aspect habituels mais plus clairsemé et de teinte plus claire. Il n'y a ni sclérotes, ni périthèces.

Lait écrémé.- Le mycélium est extrêmement mamelonné, il présente en effet de nombreuses circonvolutions. La sporulation est aussi intense et à la même teinte que sur les autres

- T[illegible] (Co[illegible]é) -

A. Tamarii d'après R. HEIM(76)	A. terricola var. americana (Marchal) décrit par THOM(77)	Souche M.N.H.N. N° 191
laineux, floconneux ou velouté pulvérulent brun olive ou vert orangé (5me jour à 25°C).	croissance rapide à temp. de la chambre quelquefois floconneux au centre des colonies ocre jaune jeune à brun Dresde ou brun noisette âgé. Revers incolore.	croissance très rapide quelquefois floconneux jaune ocre ou cannelle plus souvent vert bistre vers le 5me jour couleur bure puis châtain bistre. Revers brun
Têtes conidiennes : ?	radiées, hémisphériques à sphériques texture lâche constituée par peu nomb. chaînes conidiennes divergentes diamètre 200 microns.	jeunes hémisphériques, âgées sphériques, radiées à branches divergentes peu serrées, diamètre : 200 microns
Conidiophores : [illegible] 7 - 11 microns.	parois rugueuses - 300 à 600 microns x 6 - 8 microns.	droits incolores, parois épaisses rugueuses 500 à 600 x 8 microns.
Vésicule : subglobuleuse 30 - 42 - 50 microns	globuleuse ou subglobuleuse jusqu'à 25 microns fertiles sur 2/3 ou 3/4 supérieur	subglobuleuse, environ 20 microns parfois plus ; fertile sur 2/3 supérieur
Stérigmates : [illegible] 8-12-17 x 4 microns en une série	7 à 10 microns x 2 à 4 microns en une série	en une série 7 à 10 microns x 3 à 4 microns.
Conidies : sphéroïdes, contour [illegible] à côtes subpolygonales, parois épaisses de 0,[illegible] [illegible] des [illegible] [illegible],[illegible] [illegible],[illegible]	ovales ou globuleuses, verruqueuses 3 x 5 à 5 microns x 7 habituellement environ 5,5 parfois 5 à [illegible]	sphériques à parois épaisses, brunes extrêmement rugueuses contour irrégulier 5 [illegible] microns.

milieux.

Il y a une peptonisation très active dèsle 4ème jour et qui est complète en 3 à 4 semaines. Le sérum est jaune clair très limpide.

TABLEAU COMPARATIF (voir page 117)

IDENTIFICATION :

Ce tableau comparatif permet d'observer une relation étroite (quant aux caractères microscopiques) entre la souche E.N.A.R. N° I9I et l'Asp. terricola var. americana. Mais les caractères macroscopiques sont différents et se rapprocheraient plutôt de ceux de l'Asp. Tamarii selon R. HEIM.

Autrement dit notre souche ne diffère de Asp. terricola var. americana que pour la teinte des colonies, celles-ci restant vertes pendant plusieurs jours avant de devenir brunes.

Or THOM étudie actuellement une série intermédiaire entre le groupe des Asp. Tamarii et le groupe des Asp. flavus oryzae. Il appelerait cette série: la série Bronze du groupe Tamarii. Les espèces appartenant à cette série seraient caractérisées par une teinte jaune verte ou verte-(Teinte des flavus)- persistante pendant plusieurs jours durant le jeune âge puis cette teinte deviendrait ensuite brune (teinte des Tamarii). Leurs caractères microscopiques seraient extrêmement voisins de ceux du groupe Tamarii.

Notre souche, correspondant très vraisemblablement à cette série Bronze non encore décrite nous proposons provisoirement pour la souche E.N.A.R. n° I9I le nom de :

Aspergillus terricola var. Bronzeus

elle ferait partie du groupe : Asp Tamarii
série : bronze.

G- Groupe des Aspergillus flavus- oryzae

Les espèces de ce groupe sont caractérisées par leurs colonies allant d'un très léger jaune verdâtre à jaune vert foncé et vert lierre. Les conidiophores sont rugueux incolores, les têtes conidiennes de toutes formes (en colonnes, sphériques), les stérigmates en une ou deux séries, les conidies plus ou moins rugueuses et de couleur variables. Ce groupe est donc assez vague quant aux caractères microscopiques. Cependant les espèces à une seule série de stérigmates sont généralement de la série oryzae, les espèces à stérigmates doubles se classant dans la série flavus bien qu'il y ait des espèces à stérigmates simples dans celle-ci.

- Souche E.N.A.R. n° I70 -

(Pl. VI)

Origine : Cette espèce a été isolée du lait.

Caractères microscopiques.- Les conidies germent en ne donnant généralement qu'un seul tube germinatif (fig 1). Elles se dilatent fort peu et la germination commence entre 13 & 15 heures. Les filaments mycéliens s'allongent très rapidement. A 20 heures ils sont très peu ramifiés et pour ainsi dire pas cloisonnés, mais par contre ils sont extrêmement sinueux, ils forment de nombreuses boucles et s'enchevêtrent intensément (fig. 2). Vers 30 heures de nombreux filaments atteignent leur diamètre définitif soit 3 microns, ils ont alors une paroi assez épaisse, ils sont cloisonnés et ont un protoplasme granuleux (fig. 3).

Dès 35-40 heures, les cellules de base se différencient nettement sur les filaments mycéliens (fig. 4 et 5) et les conidiophores apparaissent.

Il y a presque toujours deux formes d'appareils fructifères dont chaque partie présente des différences. Ainsi en est-il pour les conidiophores. Il y en a de relativement courts (200 microns à 300 microns) sinueux, lisses, incolores (fig.4 et 5) larges de 4 à 5 microns; les autres sont plus longs (400 à 1000 microns) droits, à parois épaisses légèrement rugueuses, incolores ou très légèrement teintées de jaune vert (fig. 9) larges de 10 à 12 microns.

Les têtes conidiennes sont soit petites hémisphériques soit grandes en courtes colonnes de 110-120 microns x 40 microns en moyenne. Enfin quelques unes sont sphériques radiées.

Le vésicule est une dilatation à peine marquée du conidiophore dans les petites têtes conidiennes et ne dépassent guère 8 à 10 microns (fig.4-5 et 7).

Au contraire dans les grandes formes (fig. 6, 8, 9) la vésicule est elliptique ou subglobuleuse et atteint en moyenne 25 microns x 35 microns.

Les stérigmates sont en une série sur les têtes de petit format (fig 4-5 et 7) et mesurent 6 à 7 microns x 2 microns Dans ce cas ils ne couvrent souvent que la moitié supérieure de la vésicule.

Sur les têtes conidiennes de grand format les stérigmates

sont en deux séries (fig. 6-8-9). Les stérigmates primaires sont excessivement serrés, disposés radiairement et très régulièrement sur toute la surface vésiculaire; Ils sont légérement trapézoïdaux et mesurent 7 à 9 microns quelquefois mais rarement 10 microns sur 2 microns5 à 3 microns, 5 rarement 4 microns. Les stérigmates secondaires, groupés par 2 ou 3, présentent une forme assez souvent cylindrique à fusoïde. Ils ont de 7 à 9 microns de long sur 2 à 3 microns de large.

Les conidies d'abord lisses, deviennent finement échinulées à maturité. Elles sont sphériques et d'un diamètre moyen de 3 microns,5- (la tête fructifère de la fig. 9 est très jeune, les conidies n'ont pas encore atteint leur taille normale).

Il n'a jamais été observé de périthèce ni de sclérotes Sur milieu acide les formes pénicilloïdes (fig 10-11 et 14) sont extrêmont abondantes.

N-B- Nous précisons que la pureté de la souche a été fréquemment vérifiée et que jamais il n'a pu être obtenu par dilutions successives des colonies à petites têtes et des colonies à grosses têtes. Il y a toujours eu cette dualité pour ne pas dire diversité dans les formes.

Caractères macroscopiques :

Milieu nutritif gélosé neutre.- Il se forme d'abord un mycélium blanc haut de 2 à 3 mm. La sporulation a lieu dès 48 heures. La colonie prend un aspect granuleux d'abord jaune vert clair n° 269, puis vert lierre n° 297, vert olivier n° 221 devenant ensuite plus foncé vert n° 427 ou n° 301. Le revers est parfois fauve. En vieilles cultures la teinte reste fréquemment vert de vessie n° 356, cependant il n'est pas rare de la voir passer à une couleur roussâtre ou kaki n° 315. Très souvent au bout de 3 semaines il y a d'assez nombreuses repousses blanches.

Milieu nutritif gélosé acide.- Le développement semblerait ici plus abondant. Il se forme d'abord un mycélium plus important, blanc haut, laineux, en petites aiguilles de 4 à 5 mm. Puis la sporulation donne naissance à une teinte jaune vert claire n° 269 devenant ensuite duveteux et très finement granuleux vert jaune n° 281 vert jaune n° 280 n° 279 etc., jusqu'au vert mousse passé n° 276 mais par taches irrégulières sur une même culture. Finalement toute la colonie prend cette teinte vert mousse passé n° 276, tout en restant toujours finement duveteuse ressemblant à des touffes de mousse très fines.

PLANCHE VI

Milieu nutritif gélatiné (à 15°C) : Il se forme un abondant mycélium blanc en cupule présentant de gros plis rayonnants. En profondeur le mycélium s'enfonce assez loin à la manière d'une racine très touffue. En surface la sporulation est intense d'abord jaune soufre puis jaune vert clair n° 269 et pour finir vert foncé n° 427 très granuleux.

La gélatine est liquéfiée à partir du 13ème ou du 15ème jour, parfois une teinte fluorescente diffuse dans la partie liquéfiée.

Milieu de Czapek gélosé : Le développement est déjà assez important en 24 heures et l'on constate la présence d'un mycélium abondant blanc. A 48 heures il y a un léger début de sporulation jaune verdâtre limité à la strie d'ensemencement et saillant de 1mm au-dessus du reste du mycélium blanc qui atteint à ce moment 4 à 5mm de large. Au 3ème jour toute la surface est sporulée d'où un aspect granuleux à gros grains vert jaune n° 285 à la base du tube, et n° 281 au sommet. Au 5ème jour le sommet du tube est vert lierre foncé n° 297 et la base de même teinte avec des taches jaune vert pyrite n° 263 parfois et devenant plus tard vert houx n° 302.

Souvent au 6ème jour la surface est entièrement recouverte et la teinte se stabilise au vert lierre foncé n° 297 . En très vieilles cultures la couleur est devenue vert roussâtre n° 315 , (mais ce changement ne s'observe pas toujours).

Pomme de terre : Il se forme un très abondant mycélium blanc dès 24 heures. Il est touffu et haut de 3 à 4mm. Très rapidement les fructifications envahissent le mycélium en donnant un aspect granuleux à très gros grains totalement différents des autres milieux, où l'aspect est plutôt duveteux. La teinte d'abord jaune soufre pendant très peu de temps devient vert jaune clair n° 270 - n° 269 puis vert mousse passe n° 276. La colonie reste toujours grossièrement granuleuse, mais avec des repousses blanches devenant vert mousse, duveteuses en vieilles cultures.

Bouillon nutritif :Le développement est peu abondant il se forme une petite colonie flottante plutôt rase, circulaire d'abord vert tendre au centre et à bords jaunâtres puis vert jaune n° 283 et enfin vert franc n° 373.

Milieu de Czapek liquide : Le développement est un peu plus lent. A 48 heures il n'y a encore qu'un léger voile blanc sur toute la surface, mais ensuite la croissance est

- TABLEAU COMPARATIF

St. pseudo-flava (Saito) SACCARDO (78) - syn. A. pseudo flavus (Saito)	St. variabilis ([illegible]) (79)	A. flavus (Wilhem) par B[illegible] (80)
[illegible] avec As-pergillo flavo ; field jaune virant au sombre sur pop tone ; pâle satiné de jaune.	jaune vi[illegible] t vert verdâtre.	blanc touffu gazon jaune clair puis jaune verdâtre, verdâtre parfois vert olive; en vieilles cultures brun olivâtre ou roussâtre
Têtes conidiennes ?	[illegible]0 à 115 microns	globuleuses.
Conidiophores : 1 à 2 mm sur 15 microns, parois 1 à 2 microns.	500/700 microns x 5 - 16 microns	500-1000 microns incolores, peu cloisonnés, lisses ou léger. verruqueux
Vésicule : 35 à 50 microns.	10 à 60 microns	globuleuse 38 - 60 microns.
Stérigmates : primaires 15 x 7 ; secondaires : 4 x 1 micron,2	simples 6-16 microns ou en deux séries: primaires [illegible]-1[illegible]; secondaires par 3, de 3 à 5 microns	simples courts.
Conidies : finement verruqueuses 6 à 7 microns.	d'abord lisses, hyalines 3 microns puis verdâtres sphériques, légèr. échinulées 5-6 microns,5	globuleuses finement verruqueuses jaune olivâtre 4 - 7 microns.
Sclérotes : ?	?	petits 1/2 m pourpre noir.

A. flavus (LILL)(81) syn.: Monilia flava Forsoon syn.: Asp. flavus de BARY & WORONIN.	Souche I.N.A.I. N° 170
Colonies rondes à cotonneux jaune écume de mer à jaune chartreuse vert citron à vert lierre. Parfois jaune vert persistant	croissance génér. rapide; cotonneux selon les milieux ram. jaune soufre, puis jaune verdâtre à vert lierre foncé qqfois vert houx, rarement vert roussâtre.
Toutes variées, petites hémisphériques ou grandes en colonnes ou radiées sur la 2ème culture.	Deux sortes : petites 1/2 sphériques, colonnes 110-120 x 40 quelquefois radiées.
400-1000 microns x 5 à 15 microns parfois piquetés rugueux	Deux sortes : 1/ courts sinueux lisses incolores 200-300 microns x 4-5microns - 2/ longs droits, rugueux légèr. 400-1000 x 10-12 microns.
10 à 30 ou 40 microns en dôme ou en flacons.	Deux sortes : 1/ vésic. perlé marquée 8 à 10 microns. 2/ subglobuleuse elliptique 25 à 35 microns.
simples sur petites têtes; doubl. sur grandes têtes primaires : 7-10 microns x 3-4 - secondaires : 7-10 x 2,5 - 3 microns.	simples sur petites têtes ; doubl. sur grandes têtes; primaires : 7-9 x 2,5-3,5, secondaires : par 2 ou 3 7-9 x 2-3 microns.
+ globuleuses + échinulées 3 à 5 microns.	sphériques, finement échinulées, moyenne 3 microns,5
blanc puis brun quand il y en a.	Pas de sclérotes

plus rapide. Il se forme un fin duvet blanc, haut en petites aiguilles de 2 à 3mm. Vers la 60ème heure, la sporulation commence en donnant une teinte jaune soufre puis jaune vert clair n° 270 et un aspect très granuleux. La surface toujours granuleuse, haute de 3 à 4mm devient ensuite vert clair puis vert lierre foncé n° 297.

Milieu de Czapek liquide au lactose préalablement hydrolysé : Comme milieu de Czapek liquide de composition normale.

Milieu de Czapek liquide lactosé : La teinte et l'aspect sont les mêmes mais le développement beaucoup plus lent et bien moins abondant.

Milieu glycériné de Mangin : Sur ce milieu le développement est aussi moins abondant ; la sporulation plutôt clairsemée est d'un vert légèrement plus pâle après être restée jaune assez longtemps. Il n'y a pas de sclérotes ni de périthèces.

Lait écrêmé : Ce milieu est extrêmement favorable. Il se forme rapidement un abondant voile mycélien blanc sporulant très vite et d'une façon intense ce qui donne un aspect excessivement granuleux en surface, vert n° 360 d'abord puis n° 301 et fréquemment vert roussâtre n° 315. Il y a de nombreuses repousses blanches.

Une peptonisation assez active commence entre le 5ème et le 10ème jour pour être complète en un mois à 5 semaines. Le sérum est jaune clair ou jaune citron très clair et très limpide.

TABLEAU COMPARATIF : (voir p. 124 et 125).

IDENTIFICATION :

D'après ce tableau comparatif il est certain que notre souche E.N.A.R. N° 170 se rapproche plus de l'A. flavus LINK que des autres, pourtant donnés comme synonymes par THOM.

Nous apparenterons donc la souche E.N.A.R. N° 170 à :

Aspergillus flavus (LINK)
groupe des Aspergillus flavus-oryzae
série des aspergillus flavus.

H - Groupe des Aspergillus ochraceus

L'apparence des colonies de ce groupe est extrêmement variable selon la présence ou l'absence des sclérotes. Les teintes varient du jaune citron au jaune pourpre.

D'une façon générale les têtes conidiennes sont globuleuses, radiées ou fréquemment se divisant en deux colonnes divergentes. Les conidiophores montrent normalement une coloration ochracée à parois plus ou moins rugueuses. Les stérigmates sont en deux séries, les primaires étant plus longs que les secondaires. Les conidies lisses dans certaines espèces, sont rugueuses dans d'autres.

Il y a deux séries :

1° - série sulphureus : jaune soufre à jaune citron ;

2° - série ochraceus : de nuance ochracée pâle à ocre foncé, cette série se subdivise elle-même en deux sous-séries :

a - l'une dite glabre, les conidies étant lisses ;

b - l'autre dite échinulée, les conidies étant rugueuses.

- Souche E.N.A.R. N° 190 - (Pl. IX et X)

Origine : Cette espèce a été isolée de grains de riz en provenance de la région de Brazzaville.

Caractères microscopiques :

Les conidies doublent de volume et germent en donnant deux tubes germinatifs rarement plus, au bout de 18 à 24 heures (Pl.IX fig.1). Ceux-ci croissent très rapidement pour donner un mycélium constitué de filaments très ramifiés et plus ou moins cloisonnés d'un diamètre moyen de 2 microns 5 à 3 microns.

Peu après, vers 35 heures, apparaissent les conidiophores (Pl.IX fig.2). On distingue sur les filaments certains articles qui présentent une double paroi plus épaisse que celle du filament mycélien, ce sont les cellules de base, extrêmement nettes et bien visibles. Celles-ci bourgeonnent en donnant des tubes à gros diamètre, ce sont les jeunes conidiophores. Ces derniers, à parois épaisses rugueuses, contiennent un protoplasme très granuleux. La longueur atteint presque toujours 500 microns. Ils sont plus larges que les filaments mycéliens et sont généralement colorés en

jaune. En fin de croissance leur diamètre moyen est de 7 à 8 microns, quelquefois jusqu'à 10 microns.

Les têtes conidiennes sont de teinte nettement ocre à chamois. D'abord en colonnessimplesde 300 microns de long, elles se fendent généralement en deux, si bien qu'une seule tête se présente sous forme de deux colonnes jointes à la base, puis s'écartant et se recourbant vers l'extérieur au sommet. L'épaisseur des fractions divergentes va de 60, 70 microns à 120 microns, leur longueur est toujours d'environ 300 microns.

La vésicule terminant le conidiophore, est généralement sphérique, parfois ovoïde (Pl.IX fig.7). Elle atteint un diamètre de 13 à 20 microns à maturité.

De 38 à 41 heures, les stérigmates primaires se forment sur la vésicule en commençant à apparaître sur la 1/2 sphère supérieure (Pl.IX fig.3 à 4). Ils prennent rapidement une forme plus ou moins trapézoïdale, petite base vers la vésicule (Pl.IX, coupe optique fig.7 et fig.6). Leurs dimensions varient de 7 à 8, 5 microns x 2, 5 à 3, 5 microns.

Au bout de 48 heures apparaissent les stérigmates secondaires. Ceux-ci, groupés généralement par 4 sur les stérigmates primaires, sont cylindriques et souvent terminés par un long col mince et flexueux atteignant parfois 4 microns de long. Les stérigmates secondaires mesurent 7 à 8 microns (col non compris) sur 2 à 2,5 microns de large(fig. 6 Pl. IX).

Les conidies sont sphériques parfois légèrement ovoïdes, lisses à parois plus ou moins épaisses, d'un diamètre moyen de 2 à 2,5 microns. Elles sont réunies en longs chapelets et on note assez souvent la présence de très petits ponts interconidiens.

Dès le 3ème jour (parfois même dès le 2ème jour) de très nombreuses formes anormales peuvent être observées(fig. 8 Pl.IX). C'est ainsi que des têtes fructifères de même constitution que les précédentes mais de dimensions réduites (20 à 25 microns) sont portées par des conidiophores dont la longueur ne dépasse pas parfois 35 microns. Ceux-ci peuvent être complètement absents. Sur un même filament mycélien diverses formes sont visibles : des stérigmates isolés simples émanant directement du filament et donnant directement des conidies, des stérigmates simples par 2 ou 3 ou encore, ceux-ci ne donneront qu'un ou 2 stérigmates secondaires, puis des fructifications d'allure pénicilloïde

PLANCHE IX

Ainsi que l'a déjà signalé GUEGUEN ces formes anormales s'observent dès le jeune âge à la première génération et ne sont pas imputables au milieu, ni à la sénilité des souches.

Dès le 5ème jour, parfois un peu plus tôt (3ème jour) les sclérotes apparaissent. Des filaments mycéliens se gonflent, se cloisonnent et s'entremêlent (Pl.X fig.1) pour former ensuite un pseudo-parenchyme (Pl.X fig.2). Celui-ci est formé de larges cellules de 10 à 15 microns à parois épaisses à protoplasme très granuleux, et de filaments en voie de transformation. Finalement le sclérote présente une mince zone corticale formée de cellules polyhédriques de 5 à 6 microns à parois jaunes relativement peu épaisses (Pl.X fig.3). L'intérieur est constitué par des cellules plus grandes de 7 à 15 microns, de formes plus irrégulières à parois beaucoup plus épaisses et laissant des néats entre elles

Caractères macroscopiques :

Milieu nutritif gélosé neutre : La germination est très rapide : en 24 heures à 30°C (48 heures à 15°C). Il se forme un mycélium blanc absolu floconneux peu élevé. Vers le 2ème ou 3ème jour les conidiophores apparaissent et la sporulation fait prendre à la culture un aspect granuleux ocre jaune n° 215. La surface du milieu de culture se trouve rapidement recouverte par cette sporulation intense. Il se forme quelques perles brillantes jaune ocre. Des repousses blanches floconneuses apparaissent parfois vers le 6ème ou 7ème jour, elles sporulent à leur tour très fréquemment en adoptant finalement le même aspect et la même teinte que le reste de la culture. Vers le 10ème jour apparaissent des petits grains durs, blancs puis jaune paille et enfin ocre jaune n° 215,d'un diamètre moyen d'un millimètre. Ils existent surtout a la base du tube à culture et sont groupés entre eux. Ce sont les sclérotes décrits précédemment. Le revers de la culture prend assez rapidement une teinte carmin foncé ou rouge brique fauve.

Milieu nutritif gélosé acide : Mêmes observations qu'en milieu neutre, mais exubérance plus grande encore. Le revers est jaune d'or.

Milieu nutritif gélatiné (à 15°C) : Le développement est le même que sur les deux milieux précédents mais avec de très nombreuses repousses restant blanches. La culture forme une assiette au revers très plissé, mamelonné, jaune ocre. La liquéfaction de la gélatine, énergique à la fin de la première semaine, se poursuit ensuite très lentement. Les sclérotes, s'ils apparaissent, sont peu nombreux et ne viennent que très tard.

St. ochracea (DELACROIX) (85)	St. auricoma (GUEGUEN) (26)
Blanc candide puis ochracé	Blanc puis ochracé sclérotes au 8ème ou 9ème jour blanc crème, jaune paille ocre, d'1/2mm.
Têtes conidiennes : têtes touffues séparées au milieu.	?
Conidiophores : simples, continus ochracé pâle - 500/1000 microns.	1000/1050 microns x 10 à 14; continus paroi rugueuse, épaisse, jaune chamois clair.
Vésicule : globuleuse 90 microns.	sphérique 50 microns à paroi épaisse.
St. primaires : 33 microns x 12 microns.	courte massue 7-10,5 x 3-5,microns5.
Conidies : globuleuses hyalines légèrement échinulées 7 à 8 microns.	d'abord sphériques puis ovoïdes, lisses 3microns,5 à 5 microns,5.
St. secondaires : par 3 ou 4.	par 2 à 6 en forme de quilles 7 - 12 microns x 2 - 2 microns,5

A. sclerotium (HUBERT)(84)	Souche E.N.A.A. N° 190
Croissance lente plutôt laineux blanc puis blanc jaune ocre à chamois. Au 3ème jour sclérotes blanc puis crème 1mm,5. Revers crème, repososs nb. en vieillissant cultures.	légèrement duveteux blanc puis ocre clair puis jaune ocre obscur et chamois clair Sclérotes 1mm blanc puis jaune paille et jaune glauque très clair. Revers crème à fauve parfois caramel
chambres colonnes 250 microns se fondant 60a 70 microns à la base, 125 microns à la pointe.	chambres colonnes 500 microns se fondant en deux, longueur des fractions diverses 60-70 à 120 microns.
parois jaune et rugueuses 200/400 microns x 7-10 microns mais variant de 50 microns à 1200 microns.	Parois épaisses, rugueuses jaunes; environ 500 microns x 7-8 microns, qqfois 10 microns; parfois très courts 35 microns voire inexistants
subglobuleuse 15 à 20 microns dans le grand axe.	sphérique, parfois ovoïde 15 à 20 microns.
8 à 9 microns x 3 microns,5 à 4 microns,5;	7 à 8 microns,5 x 2 microns, ,5 à 3 microns,5
sphériques, lisses 2 microns à 2 microns,5	sphériques parfois ovoïdes lisses - 2 microns à 2 microns,5
8 à 9 microns x 2 microns	par 4 - quilles à long col 7 à 8 microns (col non compris) x 2 à 2 microns,5

Pomme de terre : C'est un milieu très favorable. Un fin duvet apparaît en 24 heures, la sporulation a lieu entre le 2ème et le 3ème jour. Ensuite le développement se poursuit abondamment et la moisissure recouvre toute la surface de la pomme de terre. Les sclérotes sont visibles à partir du 8ème jour.

Milieu de Czapek gélosé : La germination est totale en 24 heures. A 48 heures la strie d'ensemencement est clair-semée légèrement duveteuse blanchâtre. Au 3ème jour une légère sporulation apparaît, la strie s'est élargie à 2 ou 3 mm. et la teinte est ocre clair. Le 5ème jour la progression est très nette mais il n'y a pas encore de sclérote. La culture est granuleuse ocre jaune légèrement obscur n° 214-215. Les sclérotes apparaissent entre le 5ème et le 6ème jour. Au 7ème jour la culture est nettement jaune ocre obscur n° 215,les sclérotes sont devenus jaune glauque très clair n° 245. Le 9ème jour la culture est devenue chamois clair n°250 les sclérotes sont toujours et resteront jaune n° 245.

Bouillon nutritif : A 48 heures, il se forme des petites colonies épaisses blanches de 2 à 3mm. Quelques unes commencent à sporuler et sont jaune paille. L'extension est ensuite faible et les sclérotes se forment vers le 6èmejour

Milieu de Czapek liquide : Le développement est à peu près identique à celui sur bouillon nutritif. La sporulation débute au 2ème jour pour être complète sur toute la surface au 3ème jour. Les sclérotes apparaissent plus tôt, un peu avant le 4ème jour.

Milieu de Czapek liquide au lactose préalablement hydrolysé : Comme sur Czapek liquide saccharosé, mais le développement est plus abondant.

Milieu de Czapek liquide lactosé : La sporulation est retardée de 24 heures et les sclérotes n'apparaissent qu'au 6ème ou 7ème jour.

Milieu glycériné de Mangin : Aspect habituel, mais il n'a pas été observé de sclérotes sur ce milieu.

Lait écrêmé : Après un rapide développement en surface et après sporulation il se forme un très abondant mycélium immergé. Celui-ci se développe en une sorte de doigt de gant d'un cm. de diamètre et de 2 à 3cm. de long, tapissé entièrement à l'intérieur par les sclérotes. La caséine du lait est attaquée dès le 5ème jour et est complète en un mois. Le sérum est jaune citron clair très limpide.

Nota.- Sur certains milieux tels que le Czapek liquide, un pigment diffuse dans le milieu, d'abord jaune d'or vers le 6ème jour, il devient rapidement rose. Ce pigment est jaune en milieu acide, rose en milieu neutre (pH 7), rose vif en milieu alcalin.

TABLEAU COMPARATIF : (voir pages 132 et 133)

IDENTIFICATION :

La souche E.N.A.R. N° 190 diffère donc nettement de St. ochracea (DELACROIX). Par contre elle se rapprocherait plus de St. auricoma (GUEGUEN) où cependant il reste encore deux grosses différences, la dimension de la vésicule et celle des spores. D'ailleurs THOM classe cette espèce dans la série sulphureus. Or, notre souche appartient à la série ochraceus (teinte ocre) sous-série glabre (les conidies étant lisses).

Dans cette sous-série, nous avons relevé l'Asp. sclerotium (HUBER) dont les caractéristiques sont excessivement voisines de notre espèce.

Nous apparenterons donc la souche E.N.A.R. N° 190 à :

Aspergillus sclerotium (HUBER)

I - Groupe des Aspergillus flavipes

- Souche E.N.A.R. N° 168 (Pl. XII) -

Origine : Cette moisissure a été isolée de grains de riz en provenance de la région de Brazzaville (A.E.F.).

Caractères microscopiques :

Les conidies doublent de volume avant de germer en donnant couramment deux tubes germinatifs d'un diamètre allant de 1 micron,5 à 2 microns (fig.1). A 30 heures (fig.2) le mycélium est déjà très développé. Il est composé de filaments très jeunes à parois minces, à protoplasme non granuleux, et de filaments plus âgés d'un diamètre de 3 microns,5 à 4 microns. Ces derniers ont une membrane plus épaisse, ils présentent de très nombreuses cloisons et leur protoplasme est très finement granuleux parsemé de rares gouttelettes très réfringentes. Quelques heures plus tard (fig.3) certains filaments sont divisés en articles encore plus nettement séparés les uns des autres, dont quelques uns à contours sinueux, le protoplasme étant toujours

finement granuleux. Vers le 2ème jour '48 heures) alors que macroscopiquement la moisissure a formé un voile mycélien continu, serré, le protoplasme devient très granuleux (fig. 4 et 5) et les gouttelettes très réfringentes y sont fréquentes, les cloisons restant toujours très marquées. Vers 60 heures les conidiophores apparaissent. Les cellules de base se distinguent assez rarement, le plus souvent d'ailleurs les conidiophores naissent d'hyphes aériens, leur longueur n'a pu être appréciée. Ils sont lisses, à parois épaisses de 1 micron,2 souvent colorés faiblement en crême ou chamois clair. Le protoplasme est finement granuleux, leur diamètre moyen est de 8 à 9 microns (fig. 11).

Les têtes conidiennes sont globuleuses, irrégulières de texture lâche, échevelée, d'un diamètre moyen de 200 à 250 microns.

La vésicule est subglobuleuse ou elliptique (fig.11) de 20 microns x 16 microns en moyenne.

Les stérigmates primaires sont de formes assez irrégulières (fig. 7 à 11) et leur apparition est très progressive sur la surface vésiculaire qu'ils finissent par recouvrir entièrement. Ils font communément 4 à 7 microns sur 2 à 2 microns,5.

Les stérigmates secondaires par 3 à 4 généralement peu épais en forme de quilles mesurent 6 microns, rarement plus sur 2 microns de large.

Les conidies d'abord ovoïdes deviennent sphériques elles sont lisses, à parois minces et ne dépassent guère 3 microns, le plus souvent elles font 2 microns à 2 microns,.

Il n'a jamais été observé de sclérotes ni de périthèces.

Caractères macroscopiques :

Milieu nutritif gélosé neutre : Le mycélium est extrêmement touffu, duveteux, blanc, haut de 4 à 5mm parfois plus. Noyé dans ce mycélium apparaissent les fructifications assez clairsemées et qui donnent une légère teinte crême.

En réalité ce sont les conidiophores qui donnent cette teinte chamois clair n° 250. A la binoculaire seuls ceux-ci sont colorés, les têtes conidiennes apparaissent

PLANCHE XII

blanchâtres. Cependant dans de très vieilles cultures, il arrive que l'aspect devienne finement granuleux chamois clair. Ce sont alors les têtes conidiennes qui ont pris cette teinte mais le fait fréquent au début de l'isolement est actuellement très rare. Il y a souvent de très nombreuses et petites perles brillantes incolores. Le revers est orangé.

Milieu nutritif gélosé acide : Le développement est plus faible et la sporulation rare.

Milieu nutritif gélatiné (15°C) : Il se forme un très abondant mycélium blanc absolu très duveteux, cotonneux. Au revers il est plissé à larges plis profonds. La sporulation est très faible.

La gélatine est liquéfiée à partir du 6ème au 9ème jour.

Milieu de Czapek gélosé : Il commence à se développer par touffes au bout de 48 heures et progresse lentement ce n'est que vers le 5ème jour qu'on constate un épais coussinet cotonneux blanc absolu assez semblable au pénicillium candidum et haut de 1/2 cm à un centimètre. Vers le 9ème ou 10ème jour on peut apercevoir surtout au sommet du tube une légère sporulation ochracée. Le revers est orangé.

Pomme de terre : Comme sur Czapek gélosé mais un peu moins développé.

Bouillon nutritif - Milieu de Czapek liquide : Sur ces deux milieux il se forme d'abord des petites touffes blanches circulaires qui s'accroissent concentriquement et se rejoignent pour former un épais tapis mycélien laineux haut d'un demi-centimètre blanc absolu. Vers le 3ème jour apparaît une fructification en bordure seulement et très clairsemée. Celle-ci ne s'étend pas et devient chamois clair vers le 9ème jour. Le revers est orange.

Milieu de Czapek liquide lactosé : Le développement est très lent jusqu'au 4ème jour et ne sporule que vers le 7ème jour. Cependant au bout de 14 jours il présente l'aspect habituel blanc floconneux avec quelques taches chamois très clair seulement en bordure.

Milieu de Czapek liquide au lactose préalablement hydrolysé : L'aspect est le même initialement mais à développement beaucoup plus rapide. La sporulation commence au 4ème jour pour être relativement fournie au 8ème jour. Le revers est orange.

- TABLEAU COMPARATIF -

Gr. des A. terreus - A. niveus (95)	Gr. des A. flavipes - St. flavipes (BAINIER et SARTORY) (82)	Souche M.N.H.N. N° 168
Croissance lente mycélium blanc dense devenant ivoire sombre à chamois pâle exsudat ambre à brun revers jaune sombre à gris brun.	blanc, croissance lente, taches café au lait épaisses re devient + blanc à la fructification.	croissance assez lente par touffes se rejoignant. Blanc, haut 4mm, laineux, chamois clair par places.
?	Raulin lactosé : peu favorable.	Czapek lactosé : Développement très lent
?	Caséine : peptonisation partielle sérum trouble.	lait écrémé : peptonisation complète en 25 jours, sérum jaune citron limpide.
?	Gélatine : liquéfaction dès le 5ème jour.	liquéfaction du 6ème au 9 ème jour.
Têtes conidiennes en colonne se fondant 300 à 500 x 20 à 60	irrégulières, bombées blanches devenant chamois.	+globul. irrég. échevelées 200 à 250 de diamètre. Blanches devenant chamois.
Conidiophores : lisses incolores sinueux 600/1000 x 4à 6 + cloisonnés grêles	souvent [illegible]s, fauves ou jaunâtres	lisses parois épaisses colorées faiblement en chamois clair diamètre 6 à 9 microns.
Vésicule : hémisphérique 8 à 15 microns.	irrégulière parfois sphérique ord. claviforme ou elliptique 16 à 18 microns ds sa pl. grande longueur	subglobuleuse ou elliptique de 20 x 15 microns.
St. primaires: 5-8 x 2,5-3	4 microns	4 à 7 x 2 à 2,5
St. sec.5-7x2-2,5	par 4 à 6 : 4 micr.	par 3 à 4 , 6 x 2
Conidies: incol. lisses, parfois minces 2 à 2 microns,5	sphériques 2 à 2,5 blanches le plus souvent.	sphériques, lisses par. minces de 2 à 2 microns,5

Milieu glycériné de Mangin : Même développement que sur bouillon nutritif. Il n'y a ni sclérotes ni périthèces.

Lait écrêmé : Il se forme un abondant mycélium blanc touffu en surface et sporulant faiblement. Au revers il s'enfonce profondément dans le milieu, il est très prolifique et forme une masse spongieuse déchiquetée blanc sale à orange crême.

Une peptonisation active commence vers le 10ème jour pour être complète 16 jours plus tard. Le sérum est jaune citron limpide.

TABLEAU COMPARATIF : (voir page 140)

IDENTIFICATION :

L'aspect macroscopique permettant de douter, de prime abord, du groupe dans lequel pouvait se classer la souche E.N.A.R. N° 168 nous l'avons comparée à l'Asp. niveus du groupe terreus, et à l'Asp. flavipes.

De l'examen du tableau page 140, il résulte que le groupe terreus doit être rejeté à cause des têtes conidiennes très différentes, des dimensions et formes des vésicules et du conidiophore. Notre souche se rapproche beaucoup de l'Asp. flavipes dont elle diffère cependant encore par des stérigmates légèrement plus grands.

Nous pensons donc pouvoir apparenter la souche E.N.A.R. N° 168 à :

l'Aspergillus flavipes (THOM)
synonyme de Stérigmatocystis flavipes (MAINIER et SARTORY).

IX - QUELQUES REMARQUES SUR LA MORPHOLOGIE DES ASPERGILLES

L'étude des quelques espèces qui viennent d'être décrites mettent une fois de plus en lumière, le polymorphisme extrême des aspergilles. Une variation insensible dans la composition du milieu de culture (ne serait-ce que celle provoquée par la croissance même de la moisissure) suffit à produire des changements notables dans la structure. De nombreux facteurs peuvent intervenir et modifier la forme type du champignon. Un certain nombre de faits ont été fréquemment rencontrés au cours de nos observations et nous les résumons brièvement ci-dessous. Hâtons nous de dire qu'aucun d'entre eux ne permet d'établir des notions qui ne soient déjà connues, ils viennent simplement confirmer des observations déjà relatées.

a - Polymorphisme des conidies :

Ce genre de polymorphisme a été rarement observé. Cependant MANGIN (48 - 49) signale que la température modifie les dimensions et la forme des conidies suivant une loi assez constante. Nous avons déjà relaté ces observations au chapitre VI c.

Cependant chez notre Aspergillus repens (souche E.N.A.R. N° 185) cultivé toujours à 30°C et sur le même milieu nutritif, nous avons observé plusieurs fois sur une même tête fructifère des conidies sphériques et elliptiques. Sur milieu glycériné et entretenu sur ce milieu pendant plusieurs générations, les différences sont encore plus marquées. C'est la seule espèce qui ait donné lieu à cette anomalie.

b - Germination des conidies :

Un autre fait mérite d'être signalé. Les conidies, à la germination, augmentent plus ou moins de volume et donnent naissance à un plus ou moins grand nombre de tubes germinatifs. Récapitulons nos observations :

Souche N°	Les conidies	Il y a
185	doublent de volume	2 à 3 tubes germinatifs
180	triplent de volume	2 à 3 tubes germinatifs
182	doublent de volume	2ou + tubes germinatifs
166	triplent de volume	.....- d -.....
165	triplent de volume	2 tubes germ. rar. plus

169	augmente peu de volume	1 tube germ. rarem. 2
155	doublent de volume	2 tubes germ. rarem.plus
152	augmente peu de volume	1 seul tube germinatif
154	.....- d -.....	1 tube germ. rarem. 2
151	.....- d -.....	.....- d -.....
191	augmente pas de volume	.....- d -.....
170	.....- d -.....	1 seul tube germinatif
190	doublent de volume	2tubes germ. rarem.plus
168	.....- d -.....	.....- d -.....

De ce tableau, on peut déduire que d'une façon générale les conidies se gonflant beaucoup sitôt avant germination donneront au moins deux tubes germinatifs ou plus. Celles qui au contraire, se dilatent peu ou pas n'en donneront le plus souvent qu'un seul.

c - Polymorphisme des appareils conidiens :

b Nous avons constaté sur nombre d'espèces :

1° - Une réduction dans les dimensions des appareils conidiens, et une simplification de leur forme, voire l'apparition de formes pénicilloïdes en fin de culture lorsque le milieu commence à s'épuiser.

C'est le cas de:l'Aspergillus pulchellus (Pl.I fig. 11) où le conidiophore se cloisonne, la vésicule est réduite ou inexistante, les stérigmates simples au lieu de doubles et très peu nombreux
de l'Aspergillus pseudo-niger (Pl.II fig. 10 - 11)
de l'Aspergillus terricola bronzeus (Pl.V fig. 7)
de l'Aspergillus sclerotium (Pl.IX fig.8) etc...

2° - une anomalie semblable, mais alors que le milieu est encore loin d'être épuisé, comme chez l'Asp. unguis (Pl. XV fig. 3), l'Asp. versicolor (Pl.X fig. 12), l'Asp. candidus (Pl.VII fig. 4).

3° - la transformation sur certaines têtes conidiennes de stérigmates en filaments mycéliens, ceux-ci donnant à leur tour des têtes plus réduites, comme chez l'Asp. terricola bronzeus (Pl.V fig. 9), l'Asp. flavus (Pl.VI fig. 10) où l'on observe une véritable forme pénicilloïde, et surtout chez l'Asp. restrictus (Pl.XI fig. 15 à 17) et chez l'Asp. repens (Pl.XIV fig. 12). Chez ces deux derniers, on rencontre ces formes au 3ème jour alors que les éléments constitutifs du milieu sont encore à peine entamés. MOLLIARD & COUPIN (34) ont observés des formes identiques avec un aspergillus niger. Ils disent que l'on n'observe jamais de pareilles

formes sur cultures faites en milieu non privés de potassium Or, notre milieu d'examen (Czapek) contient du phosphate bipotassique en quantité telle qu'il n'est certes pas épuisé au 3ème jour. Par contre nous n'avons jamais observé ces fructifications anormales avec nos quatre souches du groupe niger. Il peut être admis que la conclusion de MOLLIARD & COUPIN n'est valable que pour certaines espèces d'aspergilles. De même, alors que ces auteurs opéraient sur de grandes quantités de milieux, parce qu'en petites quantités sur boites de Pétri, l'attaque du verre produit l'élément manquant et qu'ainsi les formes anormales ne sont pas observées, nos cultures ont toujours été faites sur 20cc. de milieu en boite de Pétri de 10cm. de diamètre, et nous avons toujours observé les formes décrites ci-dessus avec les espèces précitées. Il faut admettre là encore la même hypothèse que pour la carence de potassium.

LUTZ (86) observe des anomalies identiques mais moins accentuées sur St. nigra par l'emploi de substances nutritives médiocrement assimilables. GUEGUEN (26) les observe en milieu épuisé avec St. versicolor. Or, le milieu que nous employons semble bien convenir puisque nous obtenons un fort développement de toutes les espèces, même de celles donnant ces formes anormales. Il faut bien admettre que pour certaines espèces il y a autre chose qui régit l'apparition de ces anomalies et que nos recherches actuelles n'ont pas encore pu déterminer.

4° - L'apparition constante de formes pénicilloïdes sur milieu acide notamment chez l'Asp. flavus (Pl.VI fig. 14), l'Asp. candidus (Pl.VIIfig. 10), ou de têtes conidiennes avortées comme chez l'Asp. restrictus (Pl.XI fig. 13) et chez l'Asp. versicolor (Pl.X fig. 13). Cette dernière observation vient confirmer les travaux de TANRET, de BACH (85) sur la non formation des conidies en milieu acide, qu'ils expliquent par une dégénérescence progressive de l'appareil conidien. A. & R. SARTORY & J. MEYER (87) ont observé, en milieu fortement dissocié et irradié de très nombreuses formes pénicilliennes. En milieu non dissocié et irradié il y avait un simple retard dans l'apparition des appareils conidiens normaux. Ce retard a été signalé aussi par A. KIESEL (96).

Il semble que la présence de l'acide soit la cause de l'apparition des formes pénicilloïdes que nous avons observées dans ces milieux.

5° - La formation de cristaux d'oxalate de Ca surtout en milieu peptonisé, comme chez l'Asp. flavus (Pl.VI fig.7) et l'Asp. candidus (Pl.VII fig. 6).Ceci a déjà été signalé par BACH.

d - Différences de structure du mycélium :

1° - Avec toutes les souches, nous avons pu constater qu'initialement le protoplasme mycélien était homogène et que peu à peu il devenait granuleux. D'une façon générale, nous avons pu établir que l'apparition des conidiophores suivaient de peu le début de la modification de structure du protoplasme.

2° - Sur milieu glycériné de MANGIN, et sur lait, le protoplasme de toutes les espèces étudiées contient, au bout de 3 ou 4 jours, de très nombreuses gouttelettes très réfringentes d'un diamètre allant du 1/2 micron à 2p parfois 2,5 microns. Colorées au Soudan III, il semble qu'il s'agisse de gouttelettes graisseuses. BROCQ-ROUSSEU (80) avait observé cette formation sur une solution de tanin à 1%. TERROINE & BONNET (97) ont montré que le St. nigra, cultivé sur des milieux de plus en plus riches en glucose, présente une augmentation parallèle de sa teneur en matières grasses. BOHN(98), recherchant une relation entre la présence des groupements aldéhydiques et cétoniques dans le milieu nutritif et la facilité de formation des lipides, ne peut affirmer que cette facilité soit accrue à partir des sucres cétoniques. Actuellement il semble être admis que les acides gras et les lipides sont formés par les champignons à partir des glucides(99) mais le mécanisme de cette élaboration n'est pas encore nettement établi.

Il serait peut être intéressant de vérifier nos observations au microscope, en recherchant la matière grasse des aspergilles, par une méthode pondérale sur des échantillons cultivés sur lait, sur milieu glycériné et sur d'autres milieux témoins. Les rendements comparatifs de la lipogénèse aux dépens de ces milieux pourraient peut être permettre d'aider à clarifier ce problème.

3° - Sur milieu au saccharose, vers le 5ème jour, les filaments mycéliens présentent assez souvent des expansions irrégulières, difformes avec des articles allongés, pseudo-ovoïdes (Pl.VII fig.6 - Pl.IV fig.9) assez semblables aux formes observées par BROCQ-ROUSSEU sur solution glucosée. De même, nous avons retrouvé avec notre Asp. flavus, les formes globuleuses, rondes; en série tout le long des filaments sur milieu peptonisé.

e - Variations des caractères macroscopiques :

A plusieurs reprises nous avons signalé au cours de cette étude la modification de certains caractères, comme la couleur, depuis l'isolement jusqu'à une stabilisation qui

s'est produite généralement au bout de 3 ou 4 mois de cultures sur le même milieu. Nous avons cité ces faits notamment pour l'Aspergillus unguis (apparition du pigment) pour l'Aspergillus restrictus (disparition de la croissance restreinte) pour l'Aspergillus awamorii (diminution générale dans toutes les dimensions microscopiques) pour l'Aspergillus terricola var. bronzeus (apparition de la teinte verte persistant pendant 4 ou 5 jours)etc... C'est ce qu'on peut appeler une variation naturelle, les caractères initiaux étant amenés progressivement aux caractères finaux et ceux-ci restant stables par la suite. THOM estime qu'il s'agit là d'une diminution de vigueur de la culture mère et que par la suite ces souches , entretenues par cultures successives et restant stables, peuvent être considérées comme de vraies mutations. Ce fait avait été admis aussi par J. RAY en 1897 (88).

f - Pigments :

Nous avons cité au passage les espèces produisant un pigment, et tout particulièrement l'Aspergillus pulchellus qui diffuse un pigment vert noir semblant bien s'apparenter à l'hématine végétale dite aspergilline par LINOSSIER en 1891 (89) et virant au brun rouge en milieu alcalin. Nous n'avons pas étudié ici cette question de pigments déjà explorée abondamment par LAVOLLAY-LABOREY (90-91)(92) notamment. Signalons cependant que le pigment de l'aspergillus versicolor, déjà étudié par COUPIN et FRIEDEL (93) et GARNAL (94) semble exister à plus ou moins forte concentration selon les souches.

g - Conclusion :

La conclusion de cette étude morphologique ne saurait être originale. Elle démontre simplement une fois de plus la nécessité, pour bien définir une espèce, de préciser :
- les méthodes de culture employées,
- les milieux de culture utilisés,
- les formes courantes sur chaque milieu,
- la stabilité des caractères observés par des examens s'étageant sur un nombre suffisant de générations successives.
- Nous croyons en outre à la nécessité de décrire les formes atypiques, si celles-ci sont courantes, et les conditions de leur apparition.

Les Aspergillus sont des moisissures présentant une grande diversité morphologique et la description d'une souche ne peut être valable que si elle résulte d'un très grand nombre d'examens faits avec méticulosité.

B I B L I O G R A P H I E

de la 1ère partie

Chapitre I-

1.- THOM Ch. & KENNETH B. RAPER - A manual of the Aspergilli 1945 -

2.- BAINIER - Sur quelques espèces de stérigmatocystis - Bull. Soc. Bot. Fr. - 1881 - XXVIII - p. 76 -

3.- TAMIYA & MORITA - Bibliographie von Aspergillus 1729-1928

4.- SACCARDO - Sylloge Fungorum -

Chapitre II-

5.- MICHELI - Nova Plantarum Genere 1729 - p. 212 -

6.- LINK - Obs. - 1809 - p. 16 -

7.- CORDA - Icones fungorum hucusque cognitorum -1840-IV- Pl. VII - p. 31 - Prague -

8.- WILHELM - Pilsg. Aspergill. - Berlin 1877 -

9.- SACCARDO - Sylloge fungorum - 1886 - IV -

10.- THOM & CHURCH - The Aspergilli - 1926 - p. 4 -

11.- WIGGERS - Primitiae Florae Holasticae - 1780 - n° 1158

12.- LINK - Obs. 1809 - p. 31 -

13.- DE BARY - Bot. Ztg. - 1854 - XII - p. 425 -

14.- CRAMER - Viertljschr. Natur. Gesell. - Zurich 1859 -

15.- SACCARDO - Sylloge Fungorum - 1886 - IV -

16.- LUDWIG - Lehrbuch der niederen Kryptogamen - 1892 - p. 258

17.- SPEGAZZINI - An. mus. nac. Buenos Aires - 1911 - XIII - série 3 - p. 434 -

18.- VAN TIEGHEM - Sur le développement de quelques ascomy- -cètes - BUll. Soc. Bot. Fr. -1877-XXIV-p.96-

19.- DE BARY - Beitrage - 1870 - III - p. 21 -

20.- BREFELD - Bot. Zeit. - 1876 - p. 265 -

Chapitre III-

21.- VUILLEMIN - Les conidiosporés - Soc. Sci. Nancy -1909 - série III - X - fasc. 1 - p. 129 -

22.- VUILLEMIN - Matériaux pour classification rationnelle des Fungi Imperfecti - C.R. Ac.Sc. - 1910 - CL - p. 882 -

23.- BAINIER & SARTORY - Aspergillus fumigatoïdes - C.R. Soc. Biol. - LXVI - p. 22 -

24.- BAINIER & SARTORY - Aspergillus fumigatoïdes - Bull.Soc. Myc. Fr. - 1909 - XXV - p. 111-

25.- LANGERON - Précis de mycologie - Paris - 1945 -

26.- GUEGUEN - Sur une nouvelle de Stérig. - Bull. Soc. Myc. Fr. - 1899 - XV - p. 171 -

Chapitre IV -

27.- VAN TIEGHEM - Remarques sur les genres Aspergillus et stérigmatocystis - Bull. Soc. Bot. Fr. -1877- - XXIV - p. 20[illegible] -

chapitre VI -

28.- RAULIN - Etudes chimiques sur la végétation - Thèse Fac. Sc. Paris 1870 -
29.- RAULIN - Etudes chimiques sur la végétation - Ann. Soc. Nat. Bot. - série 5 - 1869 - XI - p. 93 -
30.- RAULIN - Etudes chimiques sur la végétation d'une mucédinée:Ascophora nigrans-C.R.Ac.Sc. 1863 - - LVII - p. 228 -
31.- FERNBACH - Influence de l'acide sulfocyanhydrique sur la végétation de l'Asp. niger- C. R. Ac. Sc. - - 1902 - CXXXV - p. 51 -
32.- SAUTON - Influence du fer sur quelques moisissures - Ann. Inst. Pasteur - 1911 - p. 925 -
33.- SAUTON - Sur la sporulation de l'Asp. niger et de l'Asp. fumigatus - Ann. Inst. Pasteur -1913-XXVIIp.328
34.- MOLLIARD & COUPIN - Influence du potassium sur la morphologie du St. nigra-Rev.gén.Bot.-1903-p.401
35.- MOLLIARD - Retentissement de la composition minérale du milieu nutritif sur la structure du St. nigra. C. R. Ac. Sc. - 1924 - p. 1365 -
36. -KAUFFMANN-COSLA-VASILIN & BRULL - Action des ions sur la germination et le développement des spores de l'Asp. niger - Rev.gén.Bot.-1940-LII-p.97-
37.- JAVILLIER - Recherche sur la présence et le rôle du Zn chez les végétaux - Thèse Fac.Sc.Paris-1903-
38.- G. BERTRAND & JAVILLIER - Action du Mn sur le développement de l'Asp. niger -Ann.Inst.Pasteur - 1912 - XXVI - p. 241 -
39.- G. BERTRAND & JAVILLIER - Action combinée du Mn et du Zn sur le développement et la composition minérale de l'Asp. niger - Ann. Inst. Pasteur - 1912 - XXVI - p. 515 -
40.- G. BERTRAND - Extrême sensibilité de l'Asp. niger vis-à-vis du Mn - Ann. Inst. Pasteur -1912-XXVI-767
41.- G. BERTRAND - Rôle capital du MN dans la production des conidies de l'Asp. niger-Ann.Inst.Pasteur 1912 - XXVI - p. 773 -
42.- TANRET - Action du NO3NH4 sur l'Asp. niger - C. R. Ac.Sc. - 1896 - CXXIII - p. 948 -
43.- LANGERON & MILOCHEWITCH - Ann. de paras. - 1930 - VIII - - p. 422 à 436 & p. 465 à 508 -
44.- VELU - C. R. Soc. Biol. - 1929 - p. 243 -
45.- MOREAU - Bull. Soc. Bot. Fr. - 1939 - LXXXVI - p. 12-16-
46.- DESCHIENS & LALY - C. R. Soc. Biol. - 1943 - CXXXVII - - p. 381 -
47.- WESTERDIJK & DIDDENS - 3ème congrès int. microb. New--York 1939 - Int. assoc. of microbbiol. New--York - 1940 - p. 204 -
48.- MANGIN - La diagnose des moisissures - Bull. Soc. Bot, Fr. - 1908 - LV -

49.- MANGIN - Qu'est-ce que l'Asp. glaucus? - Ann. Soc. Nat. et Bot. - 1909 - X - p. 315 -
50.- A. SARTORY,R. SARTORY & J. MEYER - Sur la formation des périthèces chez l'Asp. fumigatus sous l'influ--ence du radium - C.R.Ac.Sc.-1926-CLXXXIII-p1360

Chapitre VII -
51.- SEGUY - Code universel des couleurs - Edité par LECHEVA--LIER - 1936 -

Chapitre VIII -
52.- THOM - The Aspergillii : Asp. repens - 1945 - p. 103 -
53.- BAINIER & SARTORY - Asp. Scheelei-Bull.Soc.Myc.Fr. 1912
54.- BAINIER & SARTORY - Asp. B Scheelei-Bull.Soc.Myc.Fr.-1912
55.- Thom - The Aspergillii : Asp. restrictus-1945-p.141-
56.- BAINIER & SARTORY - Asp. gracilis-Bull.Soc.Myc.Fr. - - 1907 - XXIII - p. 92 -
57.- BAINIER & SARTORY - Asp. gracilis variété exiguus - Bull. Soc. Myc. Fr. - 1912 - p. 47 -
58.- THOM - The Aspergillii : groupe Nidulans-1945-p. 169 -
59.- MIRSKY - Sur quelques causes d'erreur dans la détermina--tion des Aspergillus parasites de l'homme - Thèse Fac. Med. Nancy - 1903 -
60.- THOM - The Aspergillii : Asp. versicolor,NRRL N° 239 - Pl. V fig. C - p. 185 ; fig. 53 C - 1945 -
61.- THOM - The Aspergillii: Asp. versicolor,NRRL N° 227 - p. 191 fig.55 - p. 185 fig.53 D - 1945 -
62.- COUPIN & FRIEDEL - Sur la biologie du St. versicolor - C. R. Ac. Sc. - 1904 - CXXXVIII - p. 1118 -
63.- J. RAY - Variations des champignons inférieurs sous l'in--fluence du milieu - Rev. gén. Bot. - 1897 - - IX - p. 290 -
64.- THOM - The Aspergillii : Asp. candidus 1945- p. 207 -
65.- BAINIER - Stérigmatocystis et Nematogonum - Bull. Soc. Bot. Fr. - 1880 - XXVII - p. 27 -
66.- J. RAY - Culture d'un Sterigmatocystis - Rev. gén. Bot. - 1897 - IX - p. 197 -
67.- VAN TIEGHEM - Sur la fermentation gallique - C. R. Ac. Sc. - 1867 - LXV -
68.- ROBIN - Asp. nigrescens - Hist.nat.végét.paras.1848p.518
69.- WREDEN - Asp. nigricans -C.R.Ac.Sc.-LXV-p.368-
70.- VAN TIEGHEM - Recherches pour l'histoire physiologique des mucédinées-Ann.Sc.Nat.Bot.-1867-s°5-VIII-p210
71.- COSTANTIN & LUCET - St. pseudo-nigra- Bull. Soc. Myc. Fr. - 1903 - XIX - p. 38 -
72.- THOM - The Aspergillii : série carbonarius - 1945 p.228 -
73.- THOM - The Aspergillii : Asp. pulchellus - 1926 p;181-
74.- BAINIER - St. carbonaria -Bull.Soc.Bot.Fr.-1880-XXVIIp.27
75.- BAINIER - St. fusca - Bull.Soc.Bot.Fr. - 1880-XXVIIp.28-
76.- R. HEIM - Sur une aspergillose du grain du café - Acad. Agri. Fr. N° 10 - 1946 -
77.- THOM - The Aspergillii:Asp. terricola - 1945 - p. 253 -

78.- SACCARDO - Sylloge fungorum : St; pseudo flava - 1913 - - XXII - p. 1260 -
79.- SACCARDO - Sylloge fungorum :St. variabilis - X-p.525-
80.- BROCQ-ROUSSEU - Asp. flavus-Rev.gén.Bot.1908-XX-p.102-
81.- THOM - The Aspergillii:Asp.flavus Link - 1945 - p.263-
82.- BAINIER & SARTORY - Etude d'une nouvelle èspèce de Ste--rigmatocystis:St. flavipes - Bull. Soc. Myc. Fr. - 1911 - XXVII -
83.- DELACROIX - St. ochracea - Bull.Soc.Myc.Fr. -1891-p.109-
84.- THOM - The Aspergillii:Asp. sclerotium(Huber)-1945-p.278-

Chapitre IX -

85.- BACH - Contribution à l'étude de la nutrition azotée de l'Asp. repens - Thèse Fac.Sc.Paris - 1925 -
86.- LUTZ - Déformation des app. sporifères du St. nigra dans les milieux artificiels - Bull. Soc. Myc. Fr. - - 1905 - XXI - p. 131 -
87.- A. & R. SARTORY & J. MEYER - Action radium sur A. fumiga--tus - C. R. Ac. Sc. - 1926 - CLXXXIII - p. 1360
88.- J. RAY - Variations des ch. inférieurs - Thèse Fac. Sc. Paris 1897 -
89.- LINOSSIER - Sur une hématine végétale:l'aspergilline - C. R. Ac. Sc. - 1891 - CXII - p. 489 & 807 -
90.- LAVOLLAY & LABOREY - Pigments jaunes de l'Asp. niger - C. R. Ac. Sc. - 1938 - CCVI - p. 1055 -
91.- LAVOLLAY & LABOREY - Acide ascorbique sur pigment - C.R. Ac. Sc. - 1937 - CCV - p. 179 -
92.- LAVOLLAY & LABOREY - Caractérisation de la lactoflavine C. R. Ac. Sc. - 1939 - CCVIII - p. 1056 -
93.- COUPIN & FRIEDEL - Sur la biologie du St. versicolor - C. R. Ac. Sc. - 1904 - p. 1118 -
94.- GARNAL - Etude biochimique du Merulius tramellosus - Thèse Fac. Ph. Paris - 1941 -
95.- BLOCHWITZ - Asp. niveus - Ann.Myc. - 1929 - XXVII(3/4) p. 205 -
96.- A. KIESEL - Changements morphologiques de l'Asp. niger en présence de divers acides et sels acides - Ann. Inst. Pasteur - 1913 - XXVII - p. 481 -
97.- TERROINE & BONNET - Formation des matières grasses aux dépens des glucides chez les microorganismes. Bull. Soc. Chim. Biol. - 1927 - IX - p. 588 -
98.- BOHN - Mécanisme de synthèse des graisses aux dépens des glucides -C.R.Ac.Sc.-1931-XCCIII-p.441-
99.- X... - Revue de Mycologie-1946-XI-Fasc.2-3-Sup.2-p.81-

- - - - - - - - - - - - - - -

TABLE DES MATIERES Ière PARTIE

ETUDE MORPHOLOGIQUE DE QUELQUES ASPERGILLES

I - Historique..... page 5
II - Caractérisation du genre aspergillus..... 8
III - Terminologie morphologique..... 11
IV - Classification des aspergilles..... 19
V - Origine et isolement des souches..... 22
VI - Culture des aspergilles..... 23
a) milieux de culture..... 23
b) matériel de culture..... 29
c) température d'entretien des cultures... 30
VII - Observation et description des aspergilles 31
VIII - Description de quelques souches d'aspergilles..... 33
A.- Groupe des A. glaucus..... 33
1 - série repens..... 33
Souche E.N.A.R. N° 185 - Aspergillus repens..... 33
2 - série restrictus..... 42
Souche E.N.A.R. N° 180 - Aspergillus restrictus..... 42
B.- Groupe des A. nidulans..... 49
Souche E.N.A.R. N° 182 - Aspergillus unguis..... 49
C.- Groupe des A. versicolor..... 54
1 - Série versicolor..... 54
Souche E.N.A.R. N° 166 - Aspergillus versicolor (TIRABOSCHI)..... 56
Souche E.N.A.R. N° 165 - Aspergillus versicolor (RAY)..... 62
D.- Groupe des A. candidus..... 70
Souche E.N.A.R. N° 169 - Aspergillus candidus..... 70
E.- Groupe des A. niger..... 81
1 - Série niger..... 82
Souche E.N.A.R. N° 155 - A.foetidus 83
Souche E.N.A.R. N° 152 - A.awamorii 90
Souche E.N.A.R. N° 154 - A. pseudoniger..... 97
2 - Série carbonarius..... 103
Souche E.N.A.R. N° 151 - A. pulchellus..... 103
F.- Groupe des A. Tamarii..... 111
Souche E.N.A.R. N° 191 - A. terricola var. bronzeus..... 112
G.- Groupe de A. flavus oryzae..... 118
Souche E.N.A.R. N° 170 - A. flavus..... 119

H.- Groupe des A. ochraceus..... page 127
Souche E.N.A.R. N° 190 - A. sclerotium..... 127
I.- Groupe des A. flavipes..... 135
Souche E.N.A.R. N° 168 - A. flavipes 135
IX - Quelques remarques sur la morphologie des aspergillus..... 142

Bibliographie de la 1ère partie..... 147